



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

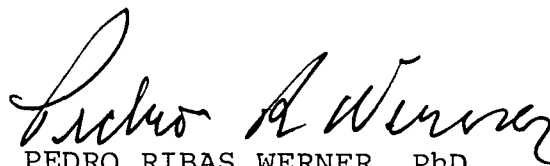
Toxicidade da *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn no Estado do Paraná: Estudo Epidemiológico e Anátomo-Patológico e Utilização da Técnica de Peroxidase-Antiperoxidase na Pesquisa do Papilomavírus em Lesões Atribuídas à Ingestão da Planta em Bovinos.

EVELYNE WEBER POLACK

Tese apresentada à Universidade Federal do Paraná para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

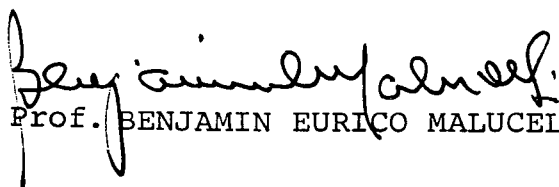
CURITIBA  
1990

APROVADA EM 30 / 03 / 90



Prof. PEDRO RIBAS WERNER, PhD

Orientador



Prof. BENJAMIN EURICO MALUCELLI, Dr.



Prof. ORISEL CURIAL, Dr.

*Ā Keni*

### AGRADECIMENTOS

Ao Professor PEDRO RIBAS WERNER, orientador deste trabalho, que com sua competência e dedicação fez despertar em mim o interesse e o entusiasmo pela Patologia.

Ao Professor JEAN-PIERRE MAGNOL e ao Serviço de Anatomia Patológica da Escola Nacional Veterinária de Lyon-França pela acolhida, pela atenção que me foi dispensada e por terem tornado possível a realização de parte deste trabalho.

Ao Professor METRY BACILA, coordenador e verdadeiro coração do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pelo exemplo, pela oportunidade de conhecê-lo e de realizar este curso.

Ao Professor JOÃO MARIA FERRAZ DINIZ pelo incentivo e amizade.

Aos colegas de curso, em especial à MARISE EPPINGER, pelo convívio e pela amizade.

À CRISTINA BALLISTA ARRUA pela inestimável colaboração e pela amizade demonstrada.

À minha filha Keni, que tanto me ensina, pelo seu carinho e compreensão.

Ao Dr. GERT HATSCHBACH, botânico responsável pelo Museu Botânico Municipal de Curitiba, pelo acompanhamento na análise das amostras de *P. aquilinum* e, também, pela oportunidade de conhecer seu trabalho e sua dedicação.

Ao Professor HENRIQUE KOEHLER pela orientação nas aná-

lises estatísticas.

Ao Dr. GÉRARD ORTH pela atenção e pela concessão do controle positivo, fundamental para a realização das provas de Peroxidase-Antiperoxidase.

À Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Estado do Paraná e ao Centro de Diagnóstico "Marcos Enrietti", nas pessoas daqueles que permitiram e colaboraram para a realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES) que, através do Acordo CAPES/COFECUB, proporcionou a realização de parte deste trabalho na Escola Nacional Veterinária de Lyon-França.

## CONTEÚDO

I.	INTRODUÇÃO .....	1
II.	REVISÃO DA LITERATURA .....	3
	2.1 A PLANTA .....	3
	2.1.1 Características gerais .....	3
	2.1.2 Distribuição geográfica .....	3
	2.1.3 Classificação .....	3
	2.1.4 Importância .....	6
	2.2 TOXICIDADE .....	9
	2.2.1 Toxicidade para bovinos .....	14
	2.2.1.1 Toxicidade aguda .....	15
	2.2.1.2 Toxicidade crônica .....	22
	2.2.2 Toxicidade para equídeos .....	26
	2.2.3 Toxicidade para ovinos .....	28
	2.2.4 Toxicidade para suínos .....	32
	2.3 PROFILAXIA .....	33
III.	MATERIAL E MÉTODOS .....	35
	3.1 ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO .....	35
	3.2 ESTUDO ANÁTOMO-PATOLÓGICO .....	37
	3.3 PESQUISA DO PAPILOMAVÍRUS .....	38
IV.	RESULTADOS .....	42
	4.1 ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO .....	42
	4.2 ESTUDO ANÁTOMO-PATOLÓGICO .....	57
	4.3 PESQUISA DO PAPILOMAVÍRUS .....	67

V.	DISCUSSÃO .....	74
VI.	SUMÁRIO .....	89
VII.	CONCLUSÕES .....	91
VIII.	ANEXOS .....	93
IX.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	96

## I. INTRODUÇÃO

A toxicidade da *Pteridium aquilinum* (samambaia) é um fato comprovado, inclusive experimentalmente, em vários países e sobre o assunto existe vasto material bibliográfico. No entanto, sua patologia ainda não está totalmente esclarecida e os resultados até agora obtidos podem não ser de todo válidos para o Brasil, ou para o Paraná, visto que aqui existem condições peculiares e que a maioria dos estudos foi realizada no exterior.

No Brasil, casos de intoxicações naturais atribuídos a ingestão da *P. aquilinum* têm sido descritos por diversos autores, mas no Estado do Paraná, especificamente, apesar da *P. aquilinum* figurar entre as principais causas de intoxicações em animais (SEAG - PR, 1986a;b) existem, na literatura científica, apenas três relatos sobre intoxicações em bovinos e equídeos provocados por sua ingestão (CURIAL, 1964; BASILE *et al.*, 1981; DINIZ *et al.*, 1984).

Durante um curso de reciclagem dos Médicos Veterinários envolvidos no Programa de Defesa Sanitária Animal, realizado em 1986, no Centro de Diagnóstico "Marcos Enrietti" (CDME)<sup>1</sup>, um grande número de participantes demonstrou um interesse maior

---

<sup>1</sup>Convênio da Fundação da Universidade Federal do Paraná (FUFPR) e Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Estado do Paraná (SEAB).



pela tóxico-patologia da *P.aquilinum*. Muitos desses veterinários, que representavam todas as regiões do Estado do Paraná, relatavam, além da ocorrência da planta, casos suspeitos de intoxicação em suas regiões.

Também o serviço de anatomia patológica do CMDE registra não só um grande número de casos suspeitos de intoxicação crônica pela *P.aquilinum* em bovinos sob a forma clássica de Hematúria Enzoótica, assim como uma ocorrência freqüente de carcinomas no trato digestivo superior na mesma espécie. Estes carcinomas, embora de etiologia não confirmada experimentalmente, têm sido atribuídos à ingestão da *P.aquilinum*, com uma possível associação de um papilomavírus.

Estes fatos motivaram a realização do presente trabalho que tem como objetivos:

- conhecer a *P.aquilinum* e as diversas manifestações clínicas e, sobretudo, anátomo-patológicas que sua ingestão provoca em animais domésticos;
- avaliar a importância da *P.aquilinum* e das intoxicações que sua ingestão provoca em animais domésticos no Estado do Paraná;
- estudar a ocorrência de carcinomas no trato digestivo superior de bovinos, sua correlação com a ingestão da planta e a possível participação de um papilomavírus na gênese dessas neoplasias.

## II. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 A PLANTA

#### 2.1.1 Características gerais

A *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn ou *Pteris aquilina* L. (samambaia, samambaia-do-campo) é uma planta perene, rizomatosa, herbácea, ereta, ramificada, medindo 50 a 180cm de altura, com reprodução por esporos e por rizomas (Fig.1). As folhas ou frondes, bi ou tripinadas, glabras ou com pêlos lanuginosos ferrugíneos na face inferior, formam densas touceiras ou estendem-se ao longo dos rizomas (TOKARNIA *et al.*, 1979 a, LORENZI, 1982).

#### 2.1.2 Distribuição geográfica

A *P. aquilinum* é planta cosmopolita de todas as regiões tropicais e temperadas (SEHNEM, 1972); é a mais amplamente distribuída das pteridófitas (plantas que se reproduzem por esporos) e, com a possível exceção de poucas plantas daninhas anuais, é provavelmente a mais amplamente distribuída das plantas vasculares. Está presente em todo o mundo, exceto em regiões desertas quentes ou frias (PAGE, 1976).

No Brasil, sua presença foi registrada em praticamente todos os Estados, inclusive no Paraná (LORENZI, 1982).

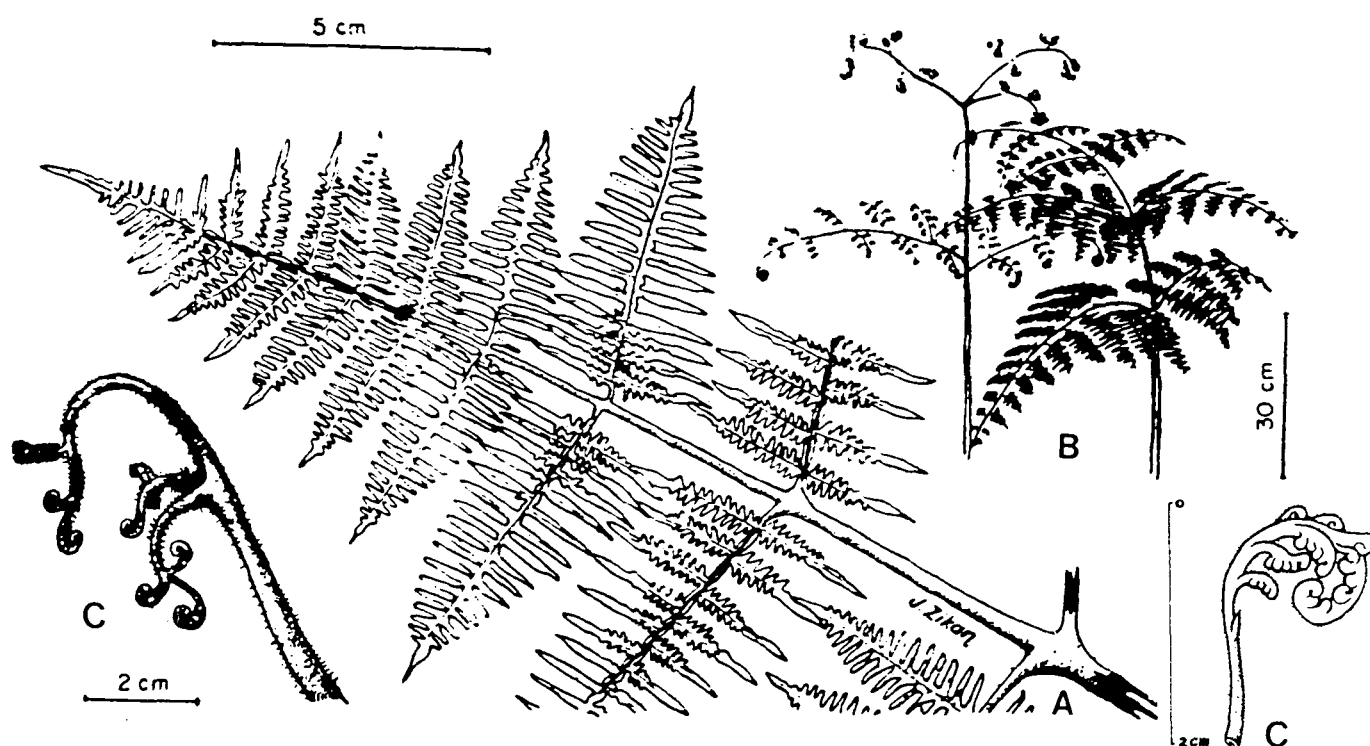


Figura 1. *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn: A) parte de uma folha (frente); B) hábito da planta isolada; C) detalhes do ápice da fronde jovem (TOKARNIA *et al.*, 1979 a,b).

### 2.1.3 Classificação

Um tratamento taxonômico satisfatório do gênero *Pteridium*, tem mostrado uma certa dificuldade que, segundo PAGE (1976), tem origem na existência de dois tipos de variação. A primeira deve-se ao fato de que a *P. aquilinum*, nas várias partes do mundo, mostra particularidades morfológicas indicativas da existência de diferentes entidades taxonômicas, cada uma tendo, geralmente, uma área geográfica distinta. Em muitas regiões, on-

de mais de uma variedade se sobrepõe, alguma intergradação morfológica pode ocorrer. O segundo tipo de variação decorre da condição de que, dentro de sua distribuição mundial, exemplares de *P. aquilinum* mostram uma morfologia notavelmente plástica que responde prontamente às diferenças no ambiente local. Algumas das mais óbvias dessas respostas são as diferentes formas e tamanhos das frondes que crescem ao sol ou à sombra. Diferenças no sombreamento, na umidade e no tipo de solo, provavelmente afetam a aparência e a biologia da planta. Além disso, exemplares jovens de *Pteridium* são tão diferentes na aparência de plantas maduras que raramente são reconhecidos como sendo desse gênero.

Outra dificuldade adicional para sua classificação é que um gênero pode apenas ser tratado taxonomicamente de forma satisfatória quando todos os seus componentes são considerados simultaneamente dentro de sua distribuição geográfica, o que assegura que critérios taxonômicos semelhantes sejam uniformemente aplicados. Para um gênero de distribuição geográfica tão ampla como o *Pteridium*, isso requereria uma pesquisa mundial, e apenas um estudo dessa extensão foi realizado - o clássico estudo da taxonomia do gênero *Pteridium*, realizado por TRYON em 1941 (PAGE, 1976).

Segundo TRYON (1941), o gênero *Pteridium* é monotípico e a única espécie é a *aquilinum*. Nesta espécie, entretanto, ele reconhece duas subespécies e doze diferentes variedades geográficas. Na América do Sul registra-se, principalmente, a ocorrência de *P. aquilinum* subesp. *caudatum*, var. *arachnoideum* e, também, no extremo norte, a ocorrência da var. *caudatum*.

Entretanto, talvez pela importância econômica da *P. aquilinum*, muitas outras opiniões têm sido expressas na literatura,

antes e depois do trabalho de TRYON (1941). A aplicação de julgamentos locais e independentes à taxonomia dessa planta em várias partes do mundo resultou em várias categorias, muitas das quais são, provavelmente, variações induzidas pelo ambiente e sem conseqüências taxonômicas. Por outro lado, vários especialistas têm, às vezes, conferido a posição de espécie a algumas ou a todas as variedades descritas por TRYON (1941) e alguma evidência tem surgido no presente de que a visão monotípica desse gênero tenha, eventualmente, que ser modificada. Embora haja tendência de agrupar todos os elementos em uma única e conveniente espécie, *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, a maioria dos pteridologistas hoje concordariam em que essa tendência simplifica excessivamente o problema.

Por tudo isso, PAGE (1976) adverte contra uma extrapolação indiscriminada de dados obtidos sobre populações de *P. aquilinum* de uma parte do mundo e, não obstante o esforço de TRYON para esclarecer a taxonomia desse gênero, muitas amostras mais são ainda necessárias para um estudo mais profundo de sua prevalência e taxonomia nas diferentes regiões onde ocorre (SEHNEM, 1972).

#### 2.1.4 Importância

A *P. aquilinum* é uma das poucas pteridófitas que se tornaram problema para o homem, especialmente em regiões temperadas, intensamente agricultadas. É uma planta daninha, invasora, bastante freqüente, principalmente em solos ácidos, arenosos e de baixa fertilidade. Infesta campos, solos cultivados, capoeiras, beiras de mato e de estradas. Além disso, é tóxica para os animais e, talvez, até para o homem (TOKARNIA *et al.*, 1979b; LORENZI, 1982).

Muitos fatores contribuíram para sua importância. Diferentemente da maioria das plantas daninhas, a *P. aquilinum* tem uma distribuição mundial natural. Ela estabeleceu-se como um membro de muitas comunidades de plantas de florestas abertas muito tempo antes da chegada do homem ou da difusão da agricultura, embora esta atividade tenha contribuído para aumentar substancialmente sua prevalência em muitas regiões.

O gênero *Pteridium* desenvolveu-se, com toda probabilidade, primeiramente nos trópicos, onde atualmente existem diversos grupos de outras de samambaias, com características semelhantes ou diferentes daquelas da *P. aquilinum*. Muitos desses grupos são evolucionariamente ativos e são capazes de marcar firmemente sua presença contra a competição e o vigor da vegetação tropical, ao contrário da *P. aquilinum* que apenas manifesta exuberância em ambientes onde há pouca competição.

Em suas várias formas, a *P. aquilinum* é uma característica da vegetação de florestas abertas, especialmente quando desenvolvidas sobre solos relativamente pobres, profundos e arenosos. Nesses habitats, seus rizomas subterrâneos, profundos e particularmente duros, capacitam-na a espalhar-se amplamente e a persistir quase indefinidamente. Uma vez que um clone esteja firmemente estabelecido, a planta revela uma persistência vegetativa legendária. WATT(1940) estimou a idade máxima de rizomas entre 35 e 72 anos. Já OINONEN(1967), correlacionando o tamanho de colônias de *P. aquilinum*, com taxa de crescimento conhecida, na Finlândia, calculou que clones individuais existiam há mais de 650 anos.

Ao contrário da maioria das plantas daninhas que produzem sementes, a *P. aquilinum* é uma pteridófita, com todas as vantagens e desvantagens peculiares ao seu ciclo de vida, es-

pecialmente com relação à produção e à disseminação de esporos e ao potencial de estabelecimento de novas colônias a distâncias relativamente longas. O esporo das samambaias é um propágulo extremamente efetivo para localizar e invadir novos habitats. Como é necessário um único esporo para estabelecer uma nova colônia, cada esporo de *P.aquilinum* representa enorme potencial em forma muito pequena, facilmente transportável.

Na regeneração das florestas, em sucessões ecológicas naturais, a *P.aquilinum* é pouco mais que uma espécie pioneira na vegetação, permanecendo apenas onde áreas descobertas persistem, mas tornando-se progressivamente mais discretas e desaparecendo totalmente onde o desenvolvimento final da floresta alcança um estágio de suficiente sombreamento. A remoção da nova cobertura florestal cria habitats ideais para a invasão pela *P.aquilinum*. Queimadas, não apenas possibilitam a sobrevivência e o sucesso da *P.aquilinum* já estabelecida na falta de competição, mas também criam habitats ideais para sua invasão através de esporos, mesmo em áreas onde a planta não existia antes.

Embora muitas dessas características possam parecer incomuns, o gênero *Pteridium* tem semelhanças fundamentais com grande número de outras samambaias, e não é de forma alguma uma exceção taxonômica do grupo em geral. Os problemas e princípios aplicáveis à taxonomia, dispersão e distribuição do gênero *Pteridium* são semelhantes (talvez diferentes apenas em grau) àqueles geralmente encontrados nas outras samambaias. A mais acentuada diferença é que, como resultado da atividade do homem, a *P.aquilinum* adquiriu um alto grau de importância, principalmente, devido a uma combinação de atributos fisiológicos

e morfológicos que a capacitam a sobreviver em habitats onde sua presença forçosamente chama a atenção do homem. Como resultado disso, a fitogeografia da *P. aquilinum* e os efeitos das influências antropogênicas são melhor conhecidos do que os de qualquer outra pteridófita.

Portanto, uma samambaia não precisa ser extraordinariamente vigorosa em seu habitat natural para vencer geograficamente, precisa apenas ter uma combinação particular de atributos morfológicos e fisiológicos que possibilitem sua sobrevivência em habitats amplamente disponíveis. A *P. aquilinum* tem distribuição cosmopolita exatamente por possuir a combinação correta desses atributos, aliada à interferência universal e desinformada do homem no meio ambiente, criando ainda mais áreas desocupadas, sem respeitar as implicações ecológicas. O problema da difusão da *P. aquilinum* foi, portanto, claramente criado pelo próprio homem e, talvez apenas a restauração do equilíbrio ecológico natural para a comunidade vegetal asseguraria o seu controle a longo prazo (PAGE, 1976).

## 2.2 TOXICIDADE

A *Pteridium aquilinum* é uma das plantas tóxicas mais importantes, não só no Brasil, mas em todo o mundo. Essa importância deve-se, não só à sua ampla distribuição, como também aos diversos quadros patológicos que sua ingestão provoca em animais e, talvez, até no homem (TOKARNIA *et al.*, 1979b), uma vez que tem sido empregada na medicina popular e é consumida tradicionalmente como iguaria em alguns países como a Nova Zelândia, o Japão e, mais recentemente, também os Estados Unidos devido aos novos hábitos "naturalistas". Adicionalmente, existe a possibilidade da ingestão indireta de seus princí-



pios tóxicos através do leite e derivados e de águas aluviais de áreas infestadas (EVANS *et al.*, 1972, JARRET, 1980; EVANS *et al.*, 1982). Uma alta incidência de câncer de esôfago em humanos no Japão tem sido parcialmente atribuída à ingestão de frondes jovens (brotos) de *P. aquilinum*, e estudos na Inglaterra demonstraram uma correlação entre a ocorrência de câncer de estômago em humanos e áreas infestadas por *P. aquilinum*, reforçando a possibilidade da contaminação da água nas áreas infestadas (CHEEKE & SHULL, 1985; IARC, 1985).

Em condições naturais, as espécies animais domésticas sensíveis à intoxicação por *P. aquilinum* são sobretudo os bovinos e, secundariamente, os equídeos, os ovinos e os suínos. Experimentalmente, além dessas, diversas outras espécies têm sido intoxicadas, entre elas ratos, camundongos, cobaias e codornas.

A planta toda é tóxica, fresca ou dessecada. O calor úmido, sob certas condições, reduz sua toxicidade (EVANS *et al.*, 1954 c; EVANS, I.A. *et al.*, 1958).

Apesar de não palatável, são várias as condições em que a intoxicação natural por *P. aquilinum* pode ocorrer. Herbívoros em pastos infestados estão sujeitos a ingerir frondes jovens (a mais tóxica das partes aéreas), especialmente quando alguns fatores como seca, geadas, queimadas ou super-pastoreio prejudicam o desenvolvimento da pastagem. Bovinos em pastagens tenras, podem ingerir a planta mais madura para suprir uma deficiência em fibras. Uma vez adquirido o hábito, mesmo cessadas essas condições, o animal pode desenvolver gosto pela planta e continuar a ingeri-las (EVANS, 1976). Em regiões onde se prepara feno de campos onde há *P. aquilinum*, este pode ser fonte de intoxicação (TOKARNIA *et al.*, 1979 b). Rizo-

mas da planta, altamente tóxicos, quando expostos por aração, são também ingeridos avidamente pelos animais (EVANS, 1976).

Um dos princípios tóxicos responsável pela intoxicação em equídeos, suínos e outros animais monogástricos é uma **tiaminase do tipo I**, uma potente enzima presente também em outras pteridófitas como a *Equisetum pyramidale* (cavalinha). Essa enzima inativa a tiamina, ou vitamina B<sub>1</sub>, agindo de forma semelhante à enzima produzida por alguns microrganismos (*B. thiaminolyticus*, *Cl. thiaminolyticum*) e à enzima encontrada em alguns peixes, como a carpa, e descrita como causa da síndrome da Paralisia de Chastek em focas alimentadas com dieta contendo carpa crua (EVANS *et al.*, 1951; EVANS, 1976).

A demonstração da presença de tiaminase na *P. aquilinum* foi a primeira constatação de sua ocorrência no reino vegetal. Ela explica adequadamente as propriedades antitiamínicas dessa planta, quando ingerida por animais monogástricos como equídeos, suínos e ratos, uma vez que atua catalizando a clivagem da tiamina da dieta produzindo pirimidina e tiazol, incapazes de substituir a vitamina intacta na nutrição animal (EVANS, 1954 a).

Na avitaminose B<sub>1</sub> desenvolvem-se alterações bioquímicas que podem ser quantificadas e são de valor diagnóstico. Nessa condição observam-se níveis baixos de tiamina no sangue e nos tecidos e níveis séricos altos de piruvato (EVANS, 1976).

A deficiência de tiamina acarreta uma diminuição na utilização do piruvato, formado na via glicolítica, que acumula-se e seu nível sanguíneo sobe. O animal sofre uma diminuição do metabolismo energético com deficiência celular de ATP e o nível elevado de piruvato pode também afetar a função do sis-

tema nervoso central (CHEEKE & SHULL, 1985).

A atividade da tiaminase da *P.aquilinum* é maior nos rizomas e mostra uma variação sazonal característica (EVANS, 1976). Durante os meses de inverno os rizomas possuem altos níveis de tiaminase, que caem para aproximadamente um terço na primavera, tornando a subir no verão e atingindo seu pico no outono. As frondes jovens (brotos) mostram na primavera um alto nível de atividade enzimática, que cai rapidamente no verão com o desenvolvimento das partes aéreas. Rizomas colhidos nos meses de outono e inverno contêm de 20 a 30 vezes mais tiaminase por unidade de peso do que folhas verdes colhidas no verão.

O papel fisiológico exato da tiaminase no organismo vivo, animal ou vegetal, é um problema desconcertante, pois pode ser demonstrado que tecidos que contêm a enzima, também contêm tiamina. Substrato e enzima podem estar em diferentes compartimentos celulares ou a reação pode estar sob o controle de algum mecanismo desconhecido. A tiaminase parece ser uma enzima "fóssil" que antes facilitava uma reação essencial, agora realizada por outros meios, mas que, por algum capricho da natureza, continuou a ser codificada pelo genoma de umas poucas formas distintas de vida, entre elas a *P.aquilinum* (EVANS, 1976).

A *P.aquilinum*, no entanto, é incomum por conter diferentes fatores tóxicos, potencialmente nocivos também a outras espécies animais. Essa planta e seus extratos têm propriedades carcinogênicas e mutagênicas e quando administrados em suficiente concentração, podem ainda produzir intoxicação aguda em algumas espécies animais. Pelo menos alguns dos fatores causais dessas diferentes manifestações parecem ser os mesmos e, segundo EVANS *et al.* (1972), isso não causa surpre-

sa, visto que a síndrome letal aguda produzida pela *P. aquilinum* é de natureza radiomimética, com alterações sistêmicas comuns à síndrome produzida por irradiação ionizante, e que muitas substâncias químicas radiomiméticas têm um efeito carcinogênico retardado (EVANS & MASON, 1965). Os investigadores da toxicidade da *P. aquilinum* têm, portanto, que lutar com a diversidade de agentes nocivos presentes na planta, com as diferentes espécies animais susceptíveis e dosagens envolvidas e, também, com o período de tempo durante o qual ela é ingerida.

O princípio tóxico (provavelmente mais de um) responsável pela toxicidade em bovinos e ovinos ainda não foi determinado com precisão. Muitos estudos têm sido conduzidos com esse objetivo, chegando-se ao isolamento de diversas substâncias que incluem taninos e ácidos orgânicos, como o ácido dicafeiltartárico (chichoric acid) e o ácido 3,4,5-tri-hidróxi-1-ciclo-hexeno-1-carboxílico (shikimic acid); ao menos cinco flavonóides; aproximadamente 30 pterosina-sesquiterpenos e, também, polissacarídeos; glicosídeos, incluindo glicosídeos carcinogênicos (prunasina), e ecdisonas; astragalina (kaempferol-3-glicosídeo) e isoquercitrina (quercetina-3-glicosídeo) foram isoladas das frondes, e catecolaminas e pteraquilina foram isoladas dos rizomas. Recentemente, ptaquilosídeo ou aquilídeo A, um glicosídeo norsesquiterpeno do tipo iludane foi isolado e caracterizado como precursor metabólico das pterosinas (IARC, 1985; HOPKINS, 1986).

Algumas dessas substâncias são biologicamente ativas e altamente solúveis em água, o que levantou a possibilidade de sua passagem para o leite das vacas que ingerem a *P. aquilinum*. A presença de um carcinógeno na urina desses animais foi re-

latada (PAMUKCU *et al.*, 1966). Constatou-se a presença de um princípio tóxico no leite pela indução de sinais clínicos de intoxicação aguda em bezerros alimentados com leite de vacas em dieta suplementada com *P.aquilinum* e pela indução de adenomas pulmonares em camundongos cujas mães receberam dietas normais suplementadas com diferentes extratos de *P.aquilinum* durante a gestação e lactação. Demonstrou-se também uma correlação entre a idade e a ocorrência de tumores induzidos por *P.aquilinum* em ratos, sendo os animais mais jovens mais susceptíveis. A contaminação do leite por um carcinógeno de ocorrência natural constitui um possível risco também para a saúde humana nas áreas onde os bovinos consomem *P. aquilinum* (EVANS *et al.*, 1972).

#### 2.2.1 Toxicidade para bovinos

Surtos de intoxicação por *P.aquilinum* em bovinos são geralmente esporádicos. Nesses animais os sinais clínicos e as lesões apresentadas não estão associados a uma deficiência de tiamina, nem o quadro clínico responde à tiaminoterapia.

A capacidade de síntese da microflora do rúmen supre adequadamente as necessidades do animal hospedeiro em muitas das vitaminas do complexo B. No rúmen, as condições do pH, próximo à neutralidade, são favoráveis à ação da tiaminase e isso é comprovado pela ausência de qualquer tiamina extracelular no líquido ruminal de bovinos alimentados com *P. aquilinum*. No abomaso, entretanto, a microflora ruminal é digerida com liberação da tiamina intracelular e de seus derivados fisiologicamente ativos. Essa região do trato digestivo, sendo ácida, é desfavorável à ação da tiaminase. É também possível que uma considerável quantidade de tiaminase seja destruída no

rúmen pelas enzimas proteolíticas microbianas, de tal modo que quando a ingesta chega ao abomaso, dificilmente reste alguma atividade enzimática (EVANS *et al.*, 1954 c; EVANS, W.C. *et al.*, 1958).

Em bovinos, podem ocorrer duas formas de intoxicação, aguda e crônica.

#### 2.2.1.1 Toxicidade aguda

Quando são ingeridas quantidades diárias maiores que 10 gramas da planta por quilograma de peso do animal, durante um período de três semanas a poucos meses, pode ocorrer um quadro de intoxicação aguda (TOKARNIA *et al.*, 1979 b). Os sinais clínicos surgem repentinamente, de 3 semanas após o início da ingestão até 8 semanas após a última ingestão, o que evidencia seu efeito retardado e acumulativo e dificulta a convencer os criadores da toxicidade da planta (SIPPEL, 1952). Nessas condições, a *P. aquilinum* provoca nos bovinos, principalmente nos dois primeiros anos de vida (HAGAN, 1952) uma intoxicação cuja evolução varia de hiperaguda a subaguda (TOKARNIA *et al.*, 1979 b). O animal mostra poucos sinais (pelagem áspera, apatia, descarga de muco pela boca e narinas e, às vezes, perda de peso) antes que a planta seja ingerida por tempo e quantidade suficiente para desenvolver o quadro agudo (SIPPEL, 1952).

Este quadro de intoxicação em bovinos foi descrito pela primeira vez por FREEMAN (1893), PENBERTHY (1893) e STORRAR (1893), separadamente, e foi reproduzido experimentalmente no ano seguinte por ALMOND (1894).

O quadro agudo caracteriza-se por uma síndrome hemorrágica, acompanhada por febre extremamente alta. O animal sangra prolongadamente por qualquer ferimento e muco sanguino-

lento escorre pelas narinas e vagina. Se o animal vive mais de 24 horas após o início dos sinais, pode ocorrer diarreia sanguinolenta, fétida e escura, ou com coágulos vermelhos brilhantes (HAGAN, 1925). Nos casos subagudos podem ocorrer erosões e ulcerações nas mucosas (TOKARNIA *et al.*, 1967, 1979b). O prognóstico é grave nos casos agudos, enquanto os casos subagudos podem ser recuperados se os animais forem retirados das áreas infestadas (EVANS *et al.*, 1954a). A morbidade é geralmente baixa, mas a letalidade é alta, a morte ocorrendo em 12 a 72 horas após o aparecimento dos sinais clínicos (SIPPEL, 1952).

FLETCHER (1944) relatou dois tipos de manifestação do quadro agudo, de acordo com a idade do animal. O **tipo entérico** (mais comum em bovinos mais velhos, de até 2 anos) caracterizado por depressão, anorexia, febre alta, pulso fraco, diarreia com coágulos de sangue, conjuntiva pálida, petéquias e hemorragias mais extensas nas mucosas dos olhos, narinas, vaginas e ânus; e o **tipo laringítico** (mais comum em bezerros) caracterizado por edema na região da garganta, provavelmente devido à diminuição, na fase terminal, dos níveis de proteína plasmática (EVANS *et al.*, 1954b), respiração ruidosa e difícil, taquipnéia e febre alta, sem sinais externos de hemorragia. Esses dois tipos foram reproduzidos experimentalmente por (EVANS *et al.*, 1954a).

Exames da medula óssea e do sangue de bovinos intoxicados revelam acentuada hipoplasia mielóide com trombocitopenia e leucopenia, a princípio com redução mais acentuada do número de polimorfonucleares, e na fase final com linfopenia e também eritropenia. Há aumento da fragilidade capilar e do tempo de sangramento e uma diminuição da intensidade de re-

tração do coágulo. O tempo de protombina permanece normal e o tempo de coagulação e a concentração de fibrinogênio sanguíneo não são severamente afetados, exceto na fase terminal (EVANS *et al.*, 1954 b; EVANS & HOWELL, 1962).

As principais lesões observadas à necropsia são também de natureza hemorrágica. Variam de petéquias a grandes equimoses que podem ser observadas em quase todo o animal, principalmente no tecido subcutâneo, muscular e em superfícies serosas e mucosas. O trato digestivo mostra edema e numerosos focos de hemorragia. As áreas hemorrágicas podem estar necróticas e ulceradas. Lesões semelhantes podem ser observadas no trato respiratório e no fígado. O conteúdo intestinal está geralmente misturado com variável quantidade de sangue (STORRAR, 1893; STOCKMAN, 1917; HAGAN, 1925; CORDY, 1952; SIPPEL, 1952). A lesão mais importante é encontrada na medula óssea, que se apresenta rosa pálida em comparação com a coloração vermelha da medula de bovinos jovens normais (NAFTALIN & CUSHNIE, 1954).

Microscopicamente, são caracterizados dois tipos de hemorragia: ao redor de pequenas arteríolas e capilares (associadas à trombocitopenia) e hemorragias associadas a infartos bacterianos no fígado, rins, pulmões e músculos. A hemorragia torna-se mais evidente após o estabelecimento de uma bacteremia terminal (NAFTALIN & CUSHNIE, 1954). A lesão na medula óssea consiste de acentuada diminuição do número de células, isto é, há uma aplasia, com uma depressão inicial da série megacariocítica e granulocítica e, na fase terminal, também da série eritrocítica (EVANS *et al.*, 1954 b; c). O grau de aplasia varia de uma área para outra e pequenas áreas isoladas de tecido hematopoiético podem ser observadas. Essa le-



são na medula precede a leucopenia e a trombocitopenia observadas. Embora a aplasia seja generalizada, o número de eritrócitos permanece dentro de limites normais pelo menos até que ocorra severa hemorragia terminal. A manutenção do hematócrito em níveis normais poderia ser explicada pelo maior tempo de vida dos eritrócitos (em torno de 120 dias) em relação aos leucócitos (em torno de 14 dias) e plaquetas (em torno de 4 dias) e pelo caráter agudo da manifestação (NAFTALIN & CUSHNIE, 1954; EVANS *et al.*, 1954 c).

Essa condição é semelhante à anemia aplástica em humanos, onde trombocitopenia e granulocitopenia estão associadas, respectivamente, à hemorragia, inflamação e necrose focais (CORDY, 1952).

A natureza do mecanismo de produção da aplasia da medula não está determinada, porém está claro que bovinos intoxicados que mostram aplasia de medula óssea não apresentam deficiência de tiamina e, portanto, uma tiaminoterapia durante a ingestão da planta não previne, nem reverte a lesão do tecido hematopoiético em bovinos intoxicados, ao contrário do que ocorre em ratos e equídeos (EVANS *et al.*, 1954b; c).

A origem da febre é incerta. Culturas de sangue de animais febris podem resultar negativas, o que afasta a possibilidade da febre ser causada por uma septicemia, embora na fase terminal infecções possam ocorrer devido à granulocitopenia. É possível, também, que a circulação periférica esteja reduzida, prejudicando a termorregulação da pele, ou ainda que a pirexia seja devido a outras causas ainda não elucidadas (EVANS *et al.*, 1954 c).

O agente tóxico para bovinos parece retardar mitoses na medula óssea e, provavelmente, no tecido epitelial e no

tecido conjuntivo. Em vacas gestantes, outro sítio de rápida proliferação celular é o embrião em desenvolvimento. Assim, poder-se-ia esperar que o embrião também fosse afetando se o princípio tóxico passasse através da barreira placentária. Observações de campo sugerem que isto é possível, pois existem relatos de abortos em vacas gestantes intoxicadas e de bezerros, nascidos de vacas intoxicadas, que morrem com lesões típicas de intoxicação por *P. aquilinum*, até uma semana após o nascimento (EVANS, I.A. *et al.*, 1958; BROUGH, 1963).

EVANS & HOWELL (1962), preparando esfregaços de sangue, observaram que o sangue de bovinos nos estágios terminais de intoxicação aguda por *P. aquilinum* não se espalhava de maneira normal, mas apresentava uma aparência estriada irregular, o que foi atribuído a um aumento nos níveis sanguíneos de heparina. A liberação de heparina em quantidades anormais sugere um envolvimento de mastócitos. Como estas células também liberam histamina, esta poderia estar presente em quantidades aumentadas, em forma biologicamente ativa. Um aumento nos níveis de heparina e de histamina livres explicaria o aumento no tempo de coagulação e a fragilidade capilar que acompanham a fase final da intoxicação aguda por *P. aquilinum*, o que foi confirmado por MASON (1965). Baseados nesses achados, esses autores recomendam um tratamento para os casos de intoxicação aguda por *P. aquilinum* com anti-heparínicos, anti-histamínicos, hidrocortisona, antibiótico e álcool batílico. Este último com a finalidade de estimular a atividade da medula óssea, na dependência da presença de resquícios de tecidos hematopoiético intacto. A chance de recuperação diminui acentuadamente quando os leucócitos circulantes caem abaixo de  $2.000/\text{mm}^3$  com menos de  $100.000$  trombócitos/ $\text{mm}^3$ , mesmo que os sinais externos não

pareçam agudos (EVANS, I.A. *et al.*, 1958). Em alguns casos mesmo com uma recuperação transitória no número de leucócitos circulantes, a tendência hemorrágica não pode ser controlada.

O diagnóstico é muito importante, pois o quadro clínico da intoxicação aguda por *P. aquilinum*, além de lembrar outras intoxicações marcadas por alterações hematológicas, é bastante semelhante ao produzido por várias doenças infecciosas agudas, o que exige perspicácia no reconhecimento da condição como sendo uma intoxicação. Os quadros patológicos facilmente confundidos com a intoxicação aguda por essa planta são a Babesiose/Anaplasmosse; a Pasteurelose, quer na forma pneumônica aguda, quer na forma septicêmica hemorrágica; a Leptospirose; a intoxicação por *Crotalaria* sp.; a intoxicação por Trevo Doce mofado; a Hemoglobinúria Bacilar; a intoxicação por torta de soja cujo óleo foi extraído por tricloroetileno; o Carbúnculo Hemático e a síndrome produzida por irradiação ionizante (HAGAN, 1925, SIPPEL, 1952; EVANS, 1954 c).

Se não houverem sinais externos de hemorragia, a diferenciação da Babesiose/Anaplasmosse e da Leptospirose pode ser mais difícil. Na Babesiose/Anaplasmosse, o exame de esfregaço sanguíneo no estágio febril pode revelar a presença do hematozoário. A Leptospirose bovina aguda apresenta febre alta, anemia e hemoglobinúria. Um tipo mais crônico de Leptospirose é marcado por febre alta de curta duração, anemia, icterícia e, às vezes, aborto. Além dos sinais externos de hemorragia presentes na intoxicação por *P. aquilinum* não serem observados na Leptospirose, esta pode também ser diagnosticada sorologicamente.

A intoxicação aguda por *P. aquilinum* é clinicamente semelhante a Pasteurelose e há alguma dificuldade no diagnóstico

diferencial. As hemorragias em ambas as condições podem ser semelhantes, porém, na intoxicação por *P.aquilinum* são mais numerosas e generalizadas e acompanham-se de valores de hemoglobina sanguínea freqüentemente baixos. Pneumonia com estertores úmidos é característica da forma pneumônica aguda da Pasteurelose.

Casos de intoxicação por *Crotalaria* spp. com extensas hemorragias petequiais e equimóticas podem ser observados, mas são geralmente acompanhados por intensa fibrose hepática, distensão da vesícula biliar e edema do abomaso e da parte inicial do duodeno.

A contagem de leucócitos também é útil na diferenciação. Em nenhuma das condições citadas anteriormente ocorre a acentuada neutropenia observada nos animais intoxicados por *P.aquilinum*, exceto na Leptospirose onde ocorre neutropenia, porém transitória.

Na intoxicação por forragem de Trevo Doce (*Melilotus* sp) mofado as hemorragias são mais severas, sendo freqüente a observação de extensos hematomas subcutâneos, nos planos intermusculares e sob as serosas. Hemorragias nas mucosas e pelos orifícios naturais são raras na intoxicação por Trevo Doce e comuns na intoxicação por *P.aquilinum*. A temperatura é normal ou sub-normal na intoxicação por Trevo Doce, enquanto é alta na intoxicação por *P.aquilinum*. Transfusões de sangue e administração de vitamina K são prontamente efetivas na intoxicação por Trevo Doce.

Os sinais e lesões de Hemoglobinúria Bacilar (*Cl. haemolyticum*) são semelhantes aos da intoxicação por *P.aquilinum*, mas o acentuado infarto no fígado, a hemoglobinúria, assim co-

mo o isolamento do agente etiológico, auxiliam na diferenciação.

A intoxicação por torta de soja, cujo óleo foi extraído por tricloroetileno apresenta um quadro idêntico em muitos aspectos à intoxicação por *P.aquilinum*, porém esse método de extração não tem sido mais utilizado.

A intoxicação aguda por *P.aquilinum* também pode ser confundida com o Carbúnculo Hemático (*Bacillus anthracis*), doença hiperaguda caracterizada à necropsia por não coagulação do sangue, ausência de rigidez cadavérica e acentuada esplenomegalia, não observadas na intoxicação por *P.aquilinum*. Além disso, apesar do grande número de suspeitas clínicas, em nove anos de atividade não foram registrados pela Seção de Bacteriologia do CDME diagnósticos de Carbúnculo Hemático no Estado do Paraná.

Finalmente, a irradiação ionizante produz efeitos semelhantes à intoxicação aguda por *P.aquilinum* mas é de ocorrência pouco provável.

#### 2.2.1.2 Toxicidade crônica

Quando são ingeridas quantidades diárias menores que 10 gramas da planta por quilograma de peso por um período de um ou mais anos, ocorre uma manifestação de evolução crônica conhecida como Hematúria Enzoótica dos Bovinos (TOKARNIA *et al.*, 1979b).

Esta condição geralmente acomete bovinos acima de dois anos de idade e caracteriza-se por lesões de natureza inflamatória, hiperplásica, metaplásica e/ou neoplásica na mucosa da bexiga, que se traduzem clinicamente por hematúria intermitente e conduzem à anemia e ao emagrecimento. A morte ocorre pela perda de sangue e anemia, pela caquexia ou por metástase das

neoplasias em outros órgãos e tecidos (CHEEKE & SHULL, 1985; MOULTON, 1978b; JONES & HUNT, 1983a;d).

As alterações hematológicas que acompanham a hematúria manifestam-se, geralmente, por anemia normocítica e normocrômica devido à diminuição do número de eritrócitos ocasionada pela perda de sangue (ROSENBERGER, 1971).

O curso da enfermidade pode ser insidioso e intermitente, com melhoras passageiras e reagudizações, segundo a intensidade das hemorragias vesicais. Principalmente nos machos, a eliminação de urina pode ser interrompida por coágulos de sangue, podendo ocorrer complicações graves como hidronefrose e infecções ascendentes das vias urinárias (ROSENBERGER, 1971).

À necropsia, além dos sinais de anemia e do mau estado nutricional, podem ser observadas na mucosa da bexiga alterações características que variam de focos hemorrágicos puntiformes até proliferações de tamanho variável (ROSENBERGER, 1971).

O exame histopatológico da bexiga pode revelar desde alterações inflamatórias crônicas proliferativas com ectasia capilar até lesões neoplásicas como hemangiomas, papilomas, adenomas, carcinomas espinocelulares e de células de transição e adenocarcinomas. Excepcionalmente ocorrem metástases nos linfonodos pélvicos e em outros órgãos (CURIAL, 1964; ROSENBERGER, 1971).

O diagnóstico deve basear-se no histórico, no quadro clínico e sobretudo nas lesões (TOKARNIA, 1979b).

O diagnóstico diferencial de outras doenças que se acompanham de hematúria ou de hemoglobinúria deve ser realizado, especialmente em relação à Babesiose/Anaplasmosse que apresentam evolução aguda, ao contrário dessa forma de intoxicação por *P. aquilinum* (TOKARNIA *et al.*, 1979b).

Não se conhece um tratamento efetivo para a Hematúria Enzoótica. A retirada dos animais dos pastos infestados pela *P.aquílinum* e uma boa alimentação propiciam lenta recuperação, desde que não existam alterações neoplásicas avançadas. Porém, não há completa regeneração da mucosa vesical e após nova ingestão da planta, a hematúria recomeça, tornando esses animais pouco econômicos (TOKARNIA *et al.*, 1979b).

Além da manifestação clássica de hematúria, tem sido relacionada também à ingestão de *P.aquílinum* uma incidência relativamente alta de carcinomas espinocelulares no faringe, no esôfago e no rúmen, geralmente em bovinos com mais de cinco anos. Estas lesões estão, muitas vezes, associadas a papilomas de idêntica localização e a lesões inflamatórias e neoplásicas da bexiga (CURIAL, 1964; DOBEREINER *et al.*, 1967; TOKARNIA *et al.*, 1969).

Esses carcinomas no trato digestivo superior são vulgarmente conhecidos como "figueira da goela" ou "favo", devido ao seu aspecto macroscópico, ou como "caraguatã", devido à suposição de serem decorrentes da ingestão das folhas espinhosas de mesmo nome (TOKARNIA *et al.*, 1979b).

O diagnóstico diferencial dessas lesões deve ser considerado em relação à Actinobacilose e à Tuberculose (TOKARNIA *et al.*, 1979b), visto que podem apresentar quadro clínico e lesões macroscópicas semelhantes, sendo porém facilmente diferenciadas através de exame bacteriológico e histopatológico.

As primeiras observações sobre a ocorrência de papilomas e/ou carcinomas no trato digestivo superior de bovinos associados a lesões de Hematúria Enzoótica e a ingestão de *P.aquílinum* foram feitas no Brasil por CURIAL (1964) e, mais tar-

de, por DOBEREINER *et al.*, (1967) e CAMPOS NETO *et al.*, (1975).

Condição semelhante foi também registrada na Grã-Bretanha, onde se observou uma área de alta incidência de carcinomas no trato digestivo superior de bovinos com evidências de uma associação entre a ingestão da *P. aquilinum* e papilomas virais pré-existentes. Naquela área, 19% dos 7746 bovinos examinados rotineiramente em matadouros mostravam papilomas no trato digestivo superior. Corpúsculos de inclusão intranucleares virais foram observados em 13% dos papilomas examinados ao microscópio óptico e um papilomavírus típico foi purificado. Observou-se transformação maligna dos papilomas e, de 80 bovinos com carcinomas espinocelulares de idêntica localização, 30% tinham tumores de bexiga e 56% tinham tumores de intestino (PIRIE, 1973; JARRET, 1978; JARRET *et al.*, 1978 a;b).

Outra área de alta incidência de carcinomas espinocelulares, muitas vezes associados a papilomas, no trato digestivo superior em bovinos foi descrita por PLOWRIGHT (1955), no Kenia, porém aparentemente sem uma associação direta com a *P. aquilinum* e nem um papilomavírus pôde ser demonstrado (JARRET *et al.*, 1978b). No Kenia e nas Filipinas a ocorrência de Hematúria Enzoótica não tem sido atribuída à ingestão de *P. aquilinum* (BERAN, 1966; MUGERA & NERITO, 1968; PAMUKCU *et al.*, 1976; JARRET *et al.*, 1978a). Existem evidências de que um papilomavírus possa participar inclusive da gênese das lesões de bexiga (OLSON, 1969; PAMUKCU, 1963; MCKENZIE, 1978; YOSHIKAWA & OYAMADA, 1985).

Portanto, quanto aos carcinomas de trato digestivo superior, três diferentes situações têm sido descritas. No Brasil, onde a ocorrência de papilomas e carcinomas de trato digestivo superior está correlacionada a ocorrência da *P. aquí-*



línium e da Hematúria Enzoótica; na Grã-Bretanha, onde essa condição inclui também a ocorrência de tumores intestinais e, finalmente, no Kenia onde neoplasias de trato digestivo superior parecem não estar associadas à ingestão de *P. aquilinum* ou à Hematúria Enzoótica.

Finalmente, DOBEREINER *et al.*, (1967) consideram três diferentes formas de manifestação da intoxicação crônica pela *P. aquilinum* de acordo com a localização das lesões: ronqueira, dificuldade de deglutição e tosse devido a presença de carcinoma no faringe; regurgitação de alimentos, timpanismo crônico e diarréia causados pela presença de carcinoma no esôfago e no rúmen; e hematúria intermitente crônica (Hematúria Enzoótica dos Bovinos) decorrente das lesões na bexiga. Mais de um dos três tipos de lesões podem coexistir no mesmo animal, e aquele que prevalecer será responsável pelo quadro clínico apresentado.

### 2.2.2 Toxicidade para equídeos

Segundo EVANS (1951, 1976) a intoxicação natural de equídeos por *P. aquilinum* foi primeiramente descrita por MULLER em 1897, em animais pastando em áreas infestadas e a condição foi reproduzida experimentalmente pela primeira vez por HADWEN em 1917.

A ingestão de quantidades diárias maiores que 10 gramas de *P. aquilinum* por quilograma de peso provoca, em apenas cerca de um mês, um quadro de intoxicação aguda de poucos dias de evolução (TOKARNIA *et al.*, 1979b).

Os sinais de intoxicação nos equídeos constituem uma síndrome polineurítica que indica um envolvimento do sistema nervoso central e diferem bastante daqueles observados em bovi-

nos. Os equídeos apresentam ataxia, tremores musculares, convulsões, opistôtono e sonolência. A temperatura e o apetite permanecem normais no princípio. Ocorre bradicardia com arritmia na fase inicial e taquicardia com elevação da temperatura corporal e anorexia na fase terminal. Alguns desses sinais são clássicos de um quadro de deficiência de tiamina, causado pela presença da tiaminase, e respondem prontamente à tiaminoterapia quando administrada no início dos sinais clínicos (EVANS, 1951, 1976; CLARKE & CLARKE, 1967).

Embora trombocitopenia e redução das taxas normais de outros elementos figurados do sangue sejam também observadas nos equídeos intoxicados por *P.aquilinum*, o quadro nervoso prevalece. Provavelmente as alterações hematopoiéticas que se verificam nos equídeos intoxicados pela *P.aquilinum* baseiem-se nos mesmos princípios tóxicos para bovinos, porém uma relação com a deficiência de tiamina não está esclarecida (JONES & HUNT, 1983b).

À necropsia, as lesões são discretas, não são características e sugerem morte por insuficiência cardíaca. Alguns autores relataram congestão generalizada, petéquias e equimoses nas mucosas e serosas, particularmente no estômago e coração, e ulceração da mucosa gástrica (EVANS *et al.*, 1951; CORDY, 1952; DINIZ, 1984). Embora estudos histopatológicos do sistema nervoso central de equídeos intoxicados por *P.aquilinum* não tenham sido relatados, VON MURALT (1958, 1962) acredita que a principal lesão é nesse tecido e sugeriu que a tiamina desempenha um importante papel na condução nervosa participando indiretamente no sistema de transporte de sódio. As lesões de deficiência de tiamina em animais monogástricos são geralmente limitadas a zonas de malácia bilaterais simétricas, envolvendo

vários núcleos cerebrais (JONES & HUNT, 1983b).

O diagnóstico deve basear-se no histórico e no quadro clínico. Como a manifestação da intoxicação por *P. aquilinum* em equídeos corresponde a uma deficiência de tiamina, o diagnóstico pode ser confirmado pela dosagem de piruvato sanguíneo e pela pronta recuperação dos casos menos avançados após tratamento com a vitamina em injeções diárias na dosagem de 100 mg de cloridrato de tiamina, durante aproximadamente sete dias (CLARKE & CLARKE, 1967; TOKARNIA *et al.*, 1979b).

No diagnóstico diferencial, devem ser consideradas as encefalites, entre elas a Raiva e a Encefalomielite Viral Equina. A primeira facilmente diagnosticada através de exames laboratoriais e a segunda nem sempre fácil de ser diagnosticada com segurança (TOKARNIA *et al.*, 1979b).

### 2.2.3 Toxicidade para ovinos

Embora a intoxicação natural de ovinos por *P. aquilinum* seja considerada rara, e no Brasil não tenha sido descrito nenhum caso, convém relatar as duas formas de manifestação da doença nessa espécie com a finalidade de subsidiar o diagnóstico de prováveis ocorrências no futuro.

Um quadro hemorrágico comparável ao observado em bovinos foi descrito por alguns autores (MOON & RAAFAT, 1951; PARKER & McCREA, 1965) em casos de intoxicação natural e experimental.

A administração experimental de *P. aquilinum* fresca para ovinos mostrou que pode haver certa dificuldade em assegurar um consumo adequado e que, neste aspecto, podem haver diferenças no comportamento dos animais, alguns ingerindo mais prontamente que outros. Algumas razões para a intoxicação não ocorrer comumente em ovinos são seus hábitos alimentares mais se-

letivos, sua relutância ou inabilidade em consumir quantidades suficientes da planta e sua tolerância, sob condições experimentais, a maiores quantidades de *P.aquilinum* se comparados com os bovinos. Entretanto, quando há um consumo suficiente pode ocorrer uma intoxicação com os mesmos sinais clínicos e achados de necropsia encontrados em bovinos, caracterizada por diminuição do número de leucócitos e plaquetas e por severa hemorragia generalizada (MOON & RAAFAT, 1951; EVANS *et al.*, 1954 a; PARKER & McCREA, 1965).

Esta manifestação em ovinos deve ser diferenciada de outras doenças que ocorrem nessa espécie. O Carbúnculo Hemático (*Bacillus anthracis*) é muito mais rapidamente fatal. A Pasteurelose é também uma doença aguda que, entretanto, não apresenta a severa hemorragia, principalmente no trato digestivo, tão característica da intoxicação por *P.aquilinum* e que, como o Carbúnculo Hemático, não produz leucopenia. A irradiação ionizante que produz efeitos semelhantes à intoxicação por *P.aquilinum* é de ocorrência pouco provável. A intoxicação por torta de soja, cujo óleo foi extraído por tricloroetileno, produz lesões semelhantes mas esse processo de extração não tem sido mais utilizado. Na Enterotoxemia Hemorrágica (*Cl. perfringens*) a temperatura é normal ou subnormal e a presença da toxina do tipo C no intestino delgado confirma o diagnóstico (MOON & RAAFAT, 1951; PARKER & McCREA, 1965).

Da mesma forma que nos bovinos, a intoxicação em ovinos parece estar intimamente relacionada ao estágio de crescimento da planta, sendo a planta jovem mais tóxica (MOON & RAAFAT, 1951).

Outra manifestação da intoxicação em ovinos é um tipo de cegueira caracterizado por uma atrofia primária da retina.

Essa condição foi primeiramente descrita por WATSON *et al.* (1965) que sugeriram uma relação entre a doença e a ingestão da planta. Uma investigação posterior sobre vários aspectos da doença (BARNETT & WATSON, 1968) confirmou sua ocorrência no norte da Inglaterra e também na Escócia. Todos os ovinos afetados tinham acesso à planta e uma significativa associação entre a atrofia da retina e leucopenia foi demonstrada. A doença predominava em ovinos de dois a quatro anos de idade. Finalmente a condição foi reproduzida experimentalmente por BARNETT & WATSON em 1970 e por WATSON *et al.* em 1972.

O exame oftalmoscópico revela sinais típicos caracterizados por hiper-refletividade do fundo tapetal e estreitamento dos vasos sanguíneos da retina (BARNETT & WATSON, 1970). Estes sinais variam desde discreto aumento da reflexão do *tapetum lucidum* com vasos sanguíneos normais na retina até alterações oftalmoscópicas extremas. De 1930 ovinos examinados por BARNETT & WATSON (1965), em 11 rebanhos onde a doença ocorria, apenas 3,8% foram reconhecidos como cegos pelos criadores, embora 15% mostrassem lesões oftalmoscópicas de atrofia de retina.

Exames hematológicos revelaram trombocitopenia e leucopenia significativas, porém sem alterações na contagem diferencial de leucócitos. O número de eritrócitos permaneceu inalterado (BARNETT & WATSON, 1970).

As alterações histopatológicas associadas à cegueira estão aparentemente confinadas ao olho, mais especificamente à retina, e confirmam os achados clínicos. Nenhuma alteração patológica significativa foi demonstrada no nervo óptico, cérebro ou fluido cérebro-espinhal. A condição é bilateral e os dois olhos mostram alterações semelhantes (algumas vezes um

pouco mais avançadas em um dos olhos) que consistem de degeneração primária progressiva do neuro-epitélio da retina, sem que sinais inflamatórios ou alterações nos vasos sanguíneos sejam observados ao microscópio. Há uma degeneração da camada de cones e bastonetes e redução na espessura da camada nuclear externa. As alterações são mais severas na região tapetal e diminuem gradualmente em direção à retina normal adjacente. As camadas internas da retina e o epitélio pigmentado não são afetados (BARNETT & WATSON, 1968, 1970).

Estudos de WATSON *et al.*, (1972) sugerem que alterações enzimáticas precedem as alterações morfológicas. Os padrões da isoenzima retinal da lactato desidrogenase em ovinos alimentados com *P. aquilinum* diferem bastante dos ovinos controle, sem que haja alterações significativamente maiores em animais mais severamente afetados.

Quanto ao princípio tóxico, é razoável supor que a depressão da atividade hematopoiética seja causada pelo mesmo fator tóxico para bovinos, porém a atrofia da retina parece ser causada por algum outro fator que aguarda elucidação (EVANS, 1976).

Experimentalmente, foi possível ainda induzir avitaminose B<sub>1</sub> em ovinos pela inclusão de determinada quantidade de pó de rizoma de *P. aquilinum* a uma dieta balanceada para esses animais, com produção de lesões idênticas aos casos naturais de polioencefalomalácia ou necrose cérebro-cortical que ocorrem em ruminantes. Em condições naturais essas lesões resultam de uma deficiência de tiamina, devido a uma alta atividade de tiaminase do tipo I de origem ainda não determinada, provavelmente microbiana, no líquido ruminal desses animais. Aparentemente, o fator determinante do tipo de manifestação apre-

sentada parece ser a quantidade de princípio tóxico ingerido (EVANS, 1976).

#### 2.2.4 Toxicidade para suínos

Sobre a intoxicação de suínos por *P. aquilinum* existe escassa referência na literatura.

Alguns casos suspeitos de intoxicação natural foram relatados, porém sua natureza não foi esclarecida e como a utilidade dos suínos em limpar áreas infestadas por *P. aquilinum* já foi cogitada em virtude de sua capacidade de arrancar os rizomas e pisotear as frondes, EVANS *et al.*, (1963) realizaram um experimento a fim de verificar a toxicidade para essa espécie.

Rizomas de *P. aquilinum*, que contêm tiaminase e também o fator tóxico para bovinos, produziram avitaminose B<sub>1</sub> em um suíno quando incorporados experimentalmente em uma dieta completa para essa espécie. A condição caracterizou-se por uma severa depressão na taxa de crescimento e por desenvolvimento das alterações bioquímicas usuais associadas à deficiência de tiamina. Esses sinais foram todos corrigidos pela administração parenteral de tiamina e, com a suplementação periódica da vitamina, nenhum outro efeito foi observado durante uma ingestão prolongada da dieta contendo rizomas da planta. O suíno nesta dieta não mostrou alterações hematológicas características da intoxicação aguda em bovinos (EVANS *et al.*, 1963). Pôde-se concluir que suínos em áreas infestadas por *P. aquilinum*, com oportunidade de consumir uma considerável quantidade de rizomas frescos, podem tornar-se tiamino-deficientes com um conseqüente efeito sobre seu desenvolvimento.

### 2.2.5 Profilaxia

Com exceção da forma polineurítica em monogástricos, nenhuma outra manifestação da intoxicação por *P. aquilinum* é passível de tratamento médico efetivo. Isto confere grande importância à profilaxia da doença, quer pela limitação do acesso dos animais à planta, quer pela sua erradicação ou, pelo menos, seu controle. Nesse sentido, tem-se que considerar, não só os fatores econômicos envolvidos, mas também as particularidades biológicas e ecológicas da planta.

Queimadas não são eficientes pois, além da planta propagar-se por rizomas subterrâneos que não são afetados pelo fogo, favorecem o estabelecimento de novas colônias, por esporos, nesses ambientes livres de competição (SIPPEL, 1952; PAGE, 1976).

Quanto à utilização de herbicidas no combate a *P. aquilinum*, alguns como o aminotriazol podem comprometer as plantas forrageiras presentes nas áreas infestadas (ROSENBERGER, 1971); o 2,4D e o esteron não se mostraram suficientemente eficientes (SIPPEL, 1952); e, segundo BRINGUIER (1987), dois herbicidas que podem ser utilizados são o asulam e o glifosato (o primeiro apresenta uma certa especificidade, porém impede a rebrota por apenas 3 ou 4 anos, já o segundo, não possui nenhuma especificidade, contudo, é mais eficaz).

Melhores resultados ainda podem ser obtidos no controle da *P. aquilinum* através da ocupação e de cuidados intensivos do solo, com adubação adequada, rotação de culturas ou pastagens, aração e nova semeadura das áreas problema. A manutenção de outras espécies vegetais nessas áreas compete com a *P. aquilinum* diminuindo seu vigor e exuberância e reduz as áreas disponíveis à sua instalação ou ao seu desenvolvimento (SIPPEL,



1952; PAGE, 1976).

Enquanto existirem grandes quantidades de *P.aquilinum* nos pastos, os bovinos devem permanecer neles por curto período. BODDIE (1947) menciona uma crença entre criadores escoceses, segundo a qual a rotação sucessiva de bovinos de áreas infestadas para áreas livres com intervalos de três semanas pode evitar a perda de animais pela intoxicação aguda. Esta prática, além de reduzir o crescimento da planta após alguns anos, devido ao pisoteio e super-pastoreio, previniria a intoxicação.

Finalmente, embora inviável, talvez apenas a restauração do equilíbrio ecológico natural asseguraria o controle da *P.aquilinum* a longo prazo (PAGE, 1976).

### III. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO

Este estudo contemplou os municípios do Estado do Paraná agrupados em 18 regiões correspondentes à divisão administrativa da Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Estado (SEAB) na época; essas regiões são ainda sub-divididas em 78 Unidades Veterinárias (UVs). Com a finalidade de verificar a influência de fatores ambientais sobre a intensidade de ocorrência da *P.aquilinum* ou de intoxicações por ela provocadas em animais domésticos, algumas análises basearam-se ainda na divisão do Estado do Paraná em 8 mesorregiões homogêneas quanto ao tipo de relevo, de solo, de clima e de vegetação (M.A., 1981).

Para avaliar o número de casos clínicos de intoxicações, agudas e crônicas, pela ingestão de *P.aquilinum* e a importância desta planta em relação às demais plantas tóxicas e as demais causas de intoxicação em animais domésticos no Estado do Paraná, foram analisados Formulários para Informações sobre Intoxicações em Animais Domésticos (anexo), enviados pelos Médicos Veterinários responsáveis pelas UVs ao Setor de Ecotoxicologia da Divisão de Defesa Sanitária Animal (DSA) da SEAB, durante o período de 1985 a 1988.

Como representativos da ocorrência de intoxicação crônica por *P.aquilinum* em bovinos foram também considerados os diagnósticos de neoplasias de bexiga registrados durante o pe-

riodo de julho de 1981 a dezembro de 1988, pela Seção de Anatomia Patológica do CDME. Paralelamente, para efeito de análise comparativa, foram também considerados no mesmo período os diagnósticos de papiloma e de carcinoma espinocelular no trato digestivo superior, bem como de lesões inflamatórias agudas e crônicas na bexiga de bovinos. Considerou-se como trato digestivo superior a porção anterior do trato digestivo revestida por epitélio pavimentoso estratificado (HEAD, 1976).

Com a finalidade de se proceder a um acompanhamento dirigido da situação, foi estabelecido um período de vigilância de 12 meses, de dezembro de 1987 a dezembro de 1988, durante o qual os casos suspeitos de intoxicação pela *P.aquilinum*, em qualquer das espécies de animais domésticos, deveriam ser notificados pelos Médicos Veterinários responsáveis pelas UVs e envolvidos no estudo.

Visando difundir e padronizar informações sobre o potencial tóxico da planta e sobre as diversas manifestações clínico-patológicas que sua ingestão provoca em animais domésticos, como forma de subsidiar a vigilância sanitária, o diagnóstico e a notificação de casos suspeitos de qualquer das manifestações, foi elaborada uma monografia com base na revisão bibliográfica sobre o assunto que foi previamente distribuída aos Médicos Veterinários envolvidos. Na mesma oportunidade, foi também distribuído um formulário de Levantamento de Ocorrência da *P.aquilinum* (anexo) a ser respondido pelos Médicos Veterinários de cada Unidade e devolvido juntamente com, pelo menos, uma amostra de *P.aquilinum* de sua área de atuação. No formulário deveriam constar informações sobre o tipo de exploração e de pastagem predominantes, bem como a intensidade estimada de ocorrência da *P.aquilinum* nas pastagens, em cada

município. As plantas a serem enviadas, de preferência férteis, isto é, que apresentassem esporos (pontos ou traços castanhos) na face inferior das folhas deveriam ser colhidas, identificadas (UV, Município, localidade, responsável pela colheita, data, observações gerais quanto à vegetação local, tipo de solo, etc.), borrifadas com álcool, encerradas em saco plástico e enviadas à Seção de Anatomia Patológica do CDME e, daí, eram encaminhadas ao Museu Botânico Municipal de Curitiba para identificação e arquivamento. O formulário, associado à colheita de amostras da planta, teve como objetivos determinar a ocorrência, a distribuição e a incidência da *P. aquilinum*, assim como as subespécies e as variedades existentes no Estado do Paraná.

Os dados obtidos foram analisados, sempre que possível, segundo tabelas de contingência, onde através do teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) ao nível de 5% de significância procurou-se determinar a existência ou não da associação entre as variáveis, (STEEL & TORRIE, 1960). Para a análise dos dados utilizou-se equipamento digital (DEC-10 System) do Centro de Computação Eletrônica da Universidade Federal do Paraná e o programa Statistical Package for the Social Sciences (NIE, N.H. *et al.*, 1975).

### 3.2 ESTUDO ANATOMO-PATOLÓGICO

Dos casos notificados durante o período de vigilância, sempre que possível, foram realizadas necropsias e colhidas amostras de lesões na bexiga e no trato digestivo superior dos bovinos necropsiados. As amostras eram fixadas em formalina a 10%, incluídas em parafina, seccionadas em micrótomo a 4 $\mu$ m e, as lâminas obtidas, coradas pela técnica de hematoxilina de Harris-Eosina para exame e diagnóstico histopatológico de rotina sob microscopia óptica (BEÇAK & PAULETE, 1976). As lesões

neoplásicas encontradas foram classificadas segundo PAMUKCU (1974); HEAD, (1976) e MOULTON (1978a,b).

### 3.3 PESQUISA DO PAPILOMAVÍRUS

Das lâminas examinadas através da microscopia óptica, foram selecionadas lesões proliferativas, hiperplásicas ou neoplásicas, e suas duplicatas foram submetidas a técnica imuno-histoquímica de Peroxidase-Antiperoxidase (PAP) (Fig.2) para pesquisa de antígenos estruturais específicos (comuns) ao gênero Papilomavírus.

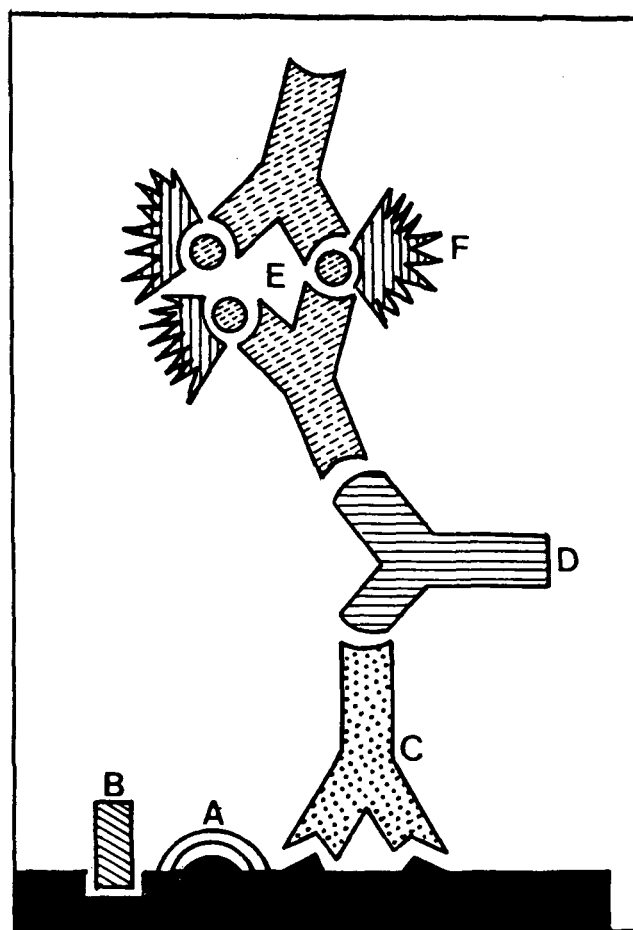


Figura 2. Técnica imuno-histoquímica de Peroxidase-Antiperoxidase (P.A.P.): A) Inibição da peroxidase endógena; B) Bloqueio de fixações inespecíficas; C) Solução do anticorpo primário; D) Solução de anticorpo secundário; E) Complexo P.A.P.; F) Solução cromógena. (BIOLYON Réactifs et Matériels de Laboratoire-Dardilly - France).

Foram utilizados um conjunto de reagentes PAP<sup>1</sup> e, como anticorpo primário, antisoro de coelho contra Papilomavírus Bovino tipo 1 (BPV-1)<sup>2</sup>; de acordo com os seguintes procedimentos adotados pelo Serviço de Anatomia Patológica da Escola Nacional Veterinária de Lyon (ENVL) - França, onde esta etapa do trabalho foi realizada:

- Incubação dos cortes de tecido, previamente selecionados, incluídos em parafina e com 4µm de espessura, durante uma noite, em estufa a 37°C;

- Desparafinização dos cortes em 3 banhos de tolueno durante 10 minutos cada um;

- Reidratação em 4 banhos de álcool (100º GL por duas vezes, 95º GL e 70º GL) durante 5 minutos cada e em água corrente durante 10 minutos;

- Retirada das lâminas da água e aspiração de todo o excesso de líquido ao redor do corte;

- Com as lâminas na posição horizontal, sobre fundo escuro, aplicação de solução tampão de salina fosfatada (PBS - Phosphate-Buffered Saline solution) sobre os cortes;

- Substituição do PBS por 4 a 6 gotas de solução de peróxido de hidrogênio a 3%, durante 5 minutos, para inibir a peroxidase endógena;

- Lavagem com PBS, 4 vezes, 3 minutos cada;

- Bloqueio de fixações inespecíficas com 4 a 6 gotas de solução tamponada de soro de carneiro não imunizado, durante 5 minutos;

---

<sup>1</sup> Réactifs PAP (LAPIN DAB) BIOLYON - Réactifs et Matériels de Laboratoire. 6, Route de Paisy. 69572. Dardilly, France.

<sup>2</sup> DAKO rabbit anti-bovine papillomavirus (BPV-1). No. de Catálogo B-580 Lote 068 DAKO Corporation. 22 North Milpas Street. Santa Barbara, CA 93103 U.S.A.

- Sem lavar, aplicação de 4 a 6 gotas da solução do anticorpo primário previamente diluído a 1:200, por 60 minutos;
- Lavagem com PBS, 4 vezes, 3 minutos cada;
- Aplicação da solução de anticorpo secundário (anti-soro de carneiro contra imunoglobulinas de coelho) por 12 minutos;
- Lavagem com PBS, 4 vezes, 3 minutos cada;
- Aplicação de 4 a 6 gotas do complexo de peroxidase-antiperoxidase, produzido em coelho, por 12 minutos;
- Lavagem com PBS, 4 vezes, 3 minutos cada;
- Aplicação da solução de substrato (ativador da reação enzimática, solução estabilizada a base de diaminobenzidina-DAB e solução de peróxido de hidrogênio a 0,3%) por 15 minutos, para dar um produto final colorido.

Todas as incubações foram realizadas à temperatura ambiente. A diluição do anticorpo primário e o tempo de incubação foram previamente determinados através do teste de diferentes diluições e diferentes tempos (1:100 e 1:200 por 20 minutos e 1:100 e 1:200 por 60 minutos, à temperatura ambiente, e 1:300 por 18 horas a 4°C).

Com exceção dos banhos, as demais lavagens e trocas de reagentes foram realizadas por aspiração, com o auxílio de uma trompa de água.

Para cada corte testado, eram utilizadas duas duplicatas como controle. Uma, apenas com inibição da peroxidase endógena e outra, processada normalmente, onde apenas a aplicação da solução de anticorpo primário era substituída por PBS. Para cada série de lâminas testadas eram processadas de forma idêntica lâminas que continham papilomavírus (fibropapiloma de teto de vaca fixado em formalina a 10% e verruga plan-

tar humana fixada em Carnoy<sup>3</sup>) como controles positivos, além de outra lâmina que não continha papilomavírus (língua normal de bovino) como controle negativo. O controle positivo fixado em formol foi encontrado testando-se amostras de papilomas bovinos incluídas em parafina, dos arquivos do Serviço de Anatomia Patológica da ENVL, juntamente com a amostra de verruga plantar humana sabidamente positiva para o Papilomavírus Humano tipo 1 (HPV-1), porém fixada em Carnoy.

---

<sup>3</sup> Amostra cedida pelo Dr. Gérard Orth-Instituto Pasteur. Paris - França.



## IV. RESULTADOS

### 4.1 ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO

#### 4.1.1 Análise da ocorrência da *P.aquilinum*

Foram recebidos 37 exemplares de samambaia e formulários de Levantamento de Ocorrência de *P.aquilinum* de 31 (39,7 %) das 78 Unidades Veterinárias (UVs), contendo informações sobre 109 (35,0 %) dos 311 municípios, contemplando todas as 8 mesorregiões e 14 (77,8 %) das 18 regiões administrativas da SEAB, com exceção apenas das regiões de Cascavel, União da Vitória, Irati e Maringá.

Dos 37 exemplares de samambaia recebidos, 33 pertenciam ao gênero *Pteridium* e à espécie *aquilinum* e aparentemente, não mostravam diferenças que permitissem uma separação em diferentes subespécies ou variedades. Uma classificação mais profunda não foi possível e esses exemplares encontram-se depositados e à disposição de interessados no Museu Botânico Municipal de Curitiba. Dois exemplares não pertenciam ao gênero *Pteridium* e outros dois encontravam-se impróprios para classificação, sendo desprezados.

Dos 109 municípios analisados, 6 (5,5 %) localizavam-se na mesorregião 1; 4 (3,7%) na mesorregião 2; 8 (7,3%) na mesorregião 3; 10 (9,2%) na mesorregião 4; 21 (19,3%) na mesorregião 5; 34 (31,2%) na mesorregião 6; 23 (21,1%) na mesorregião 7 e 3 (2,7%) na mesorregião 8.

Em 10 (9,2%) dos municípios a intensidade de ocorrência da *P.aquilinum* foi considerada alta; em 22 (20,2%) foi considerada moderada; em 34 (31,2%) foi considerada baixa; em 39 (35,8%) foi considerada discreta e em 4 (3,6%) dos municípios a planta foi considerada como inexistente.

Em 5 (4,7%) dos municípios predominava a exploração da pecuária de leite; em 49 (46,2%) a exploração da pecuária de corte e em 52 (49,1%) havia uma exploração mista, isto é, leite e corte. Este item não foi notificado em 3 dos 4 municípios onde, segundo os Médicos Veterinários responsáveis, não existe a *P.aquilinum* e o quarto município caracterizava-se por exploração mista.

Em 40 (37,7%) dos municípios predominava pastagem nativa e em 66 (62,3%) predominava pastagem cultivada. Este item também não foi notificado em 3 dos 4 municípios onde a *P.aquilinum* foi considerada como inexistente, sendo que no quarto município predominava a pastagem cultivada.

Considerando-se os 109 municípios estudados, foi observada uma associação ( $\chi^2_{0,5} = 66,58^*$ ) entre a intensidade de ocorrência da planta e as mesorregiões. Verificou-se que nas mesorregiões 1, 2 e 3 predominava uma incidência alta, nas mesorregiões 4 e 6 predominava uma incidência baixa e nas mesorregiões 5, 7 e 8 predominava uma incidência discreta. A intensidade de ocorrência da *P.aquilinum* em relação às mesorregiões, bem como a origem dos exemplares da planta recebidos, estão representados na Figura 3.

Houve também associação ( $\chi^2_{0,5} = 23,04^*$ ) entre a intensidade de ocorrência da planta e o tipo de exploração predominante, sendo que nos 5 municípios onde predominava a exploração da pecuária de leite, a intensidade variava entre bai-

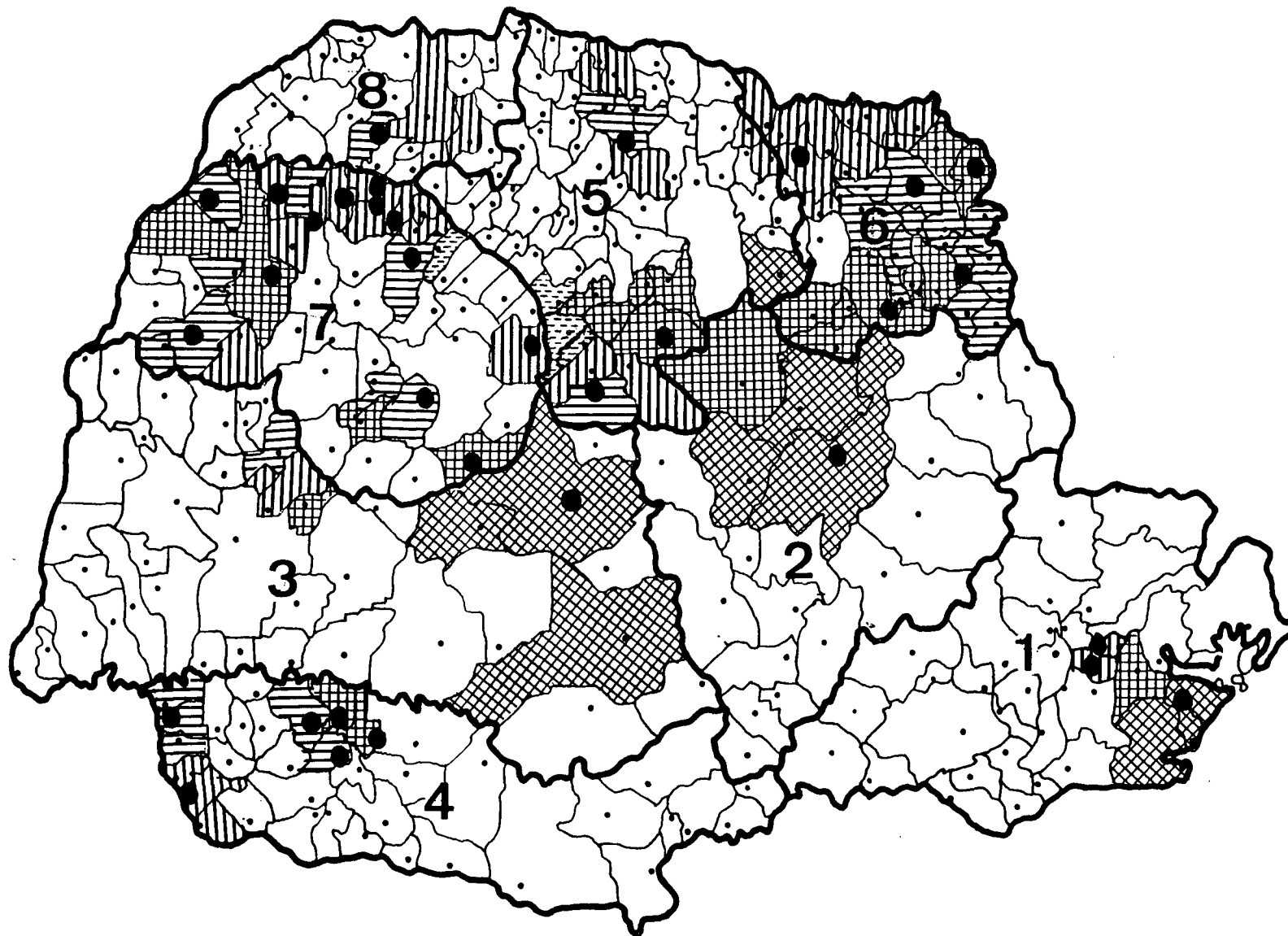








Figura 3. Ocorrência de *P. aquilinum* no Estado do Paraná, por municípios e por mesorregião:  alta (mais de 75% das propriedades com pastagens infestadas);  moderada (50-75% das propriedades com pastagens infestadas);  baixa (25-50% das propriedades com pastagens infestadas);  discreta (menos de 25% das propriedades com pastagens infestadas ou ocorrência da planta em áreas restritas de difícil acesso aos animais);  inexistente;  não notificada; segundo formulários de Levantamento de Ocorrência da *P. aquilinum*. 1988. ( ● ) exemplares de *P. aquilinum* recebidos.

xa (3 municípios) e discreta (2 municípios); nos municípios onde predominava a exploração da pecuária de corte, a intensidade predominante era moderada (18 municípios) e nos municípios de exploração mista, a intensidade de ocorrência da planta era variável, concentrando-se principalmente entre baixa (17 municípios) e discreta (27 municípios).

Não houve associação ( $\chi^2_{0,05} = 4,72^{ns}$ ) entre a intensidade de ocorrência da planta e o tipo de pastagem, nativa ou cultivada, nos 109 municípios estudados.

#### 4.1.2 Análise da ocorrência de intoxicações pela *P. aquilinum*

##### 4.1.2.1 Análise dos casos clínicos notificados

A tabela I mostra a ocorrência de intoxicações por *P. aquilinum* em comparação com outros agentes, inclusive outras plantas tóxicas. Verifica-se que a *P. aquilinum* foi responsável por 26,5 das intoxicações por plantas tóxicas e por 6,5% do total de todas as intoxicações em animais domésticos notificados no período de 1985 a 1988 no Estado do Paraná. Todos os casos de intoxicação por *P. aquilinum* notificados ocorreram em bovinos, enquanto que as demais intoxicações abrangeram várias espécies de animais domésticos.

A tabela II mostra a ocorrência de intoxicações agudas e crônicas por *P. aquilinum* em bovinos no Estado do Paraná, distribuídas por município, por região e por mesorregião, em relação aos meses do ano, no período de 1985 a 1988. As figuras 4 e 5 mostram sua distribuição gráfica em relação aos meses do ano no período analisado.

Tabela I - Ocorrência de intoxicações por plantas e outros agentes em animais domésticos no Estado do Paraná, segundo os Formulários para Informações sobre Intoxicações em Animais Domésticos - DSA/SEAB. 1985 - 1988.

AGENTES TÓXICOS	1985	1986	1987	1988*	TOTAL
<b>1. Plantas Tóxicas</b>					
<i>P. aquilinum</i> (samambaia)**	11	10	7	39	67
<i>Palicourea marcgravii</i> , <i>P. barbiflora</i> <i>P. grandiflora</i> , <i>P. juruana</i> , <i>P. psychotria</i> (erva-de-rato, cafezinho)	9	8	7	4	28
<i>Asclepias curassavica</i> (oficial-de-sala)	9	4	3	6	22
<i>Manihot</i> sp (mandioca, mandioca-brava)	4	2	5	9	20
<i>Baccharis coridifolia</i> (mio-mio)	3	10	2	4	19
<i>Lantana</i> spp. (lantana, cambará)	4	5	3	5	17
<i>Prunus sphaerocarpa</i> (pessegueiro-bravo)	4	5	1	7	17
<i>Ricinus communis</i> (mamona, palma-de-cristo)	7	2	3	3	15
<i>Brachiaria radicans</i> (tanner grass)	1	6	-	7	14
<i>Hamelia patens</i> , <i>Palicourea nicotianaefolia</i> , <i>P. longi-pedunculata</i> (falsa erva-de-rato)	1	4	2	3	10
<i>Senecio braziliensis</i> (maria-mole, flor-das-almas, cravo-de-defunto, flor-do-berne)	4	-	2	2	8
<i>Brachiaria demumbens</i> - <i>Pithomyces chartarum</i>	-	3	1	1	5
<i>Cestrum</i> spp (coerana, maria-preta)	1	2	1	1	3
<i>Solanum fastigiatum</i> (jurubeba)	-	-	1	1	2
<i>Ramaria flavo-brunnes cens</i> (cogumelo)	1	1	-	-	2
<i>Crotalaria</i> sp (xique-xique, guizo-de-cascavel)	-	1	-	1	1
<i>Sorghum vulgare</i> (sorgo)	1	-	-	-	1
<i>Philodendron</i> sp (costeja-de-adão, banana-de-mico)	-	1	-	-	1
<i>Datura arborea</i> (saia-branca)	-	1	-	-	1
Sub-total	60	65	37	91	253
2. Outros Agentes (agrotóxicos, produtos veterinários, etc.)	195	207	197	172	771
TOTAL	255	272	234	263	1024

\* Corresponde ao período de vigilância sanitária para intoxicações por *P. aquilinum*.

\*\*Todos os casos de intoxicação foram registrados em bovinos.

Tabela II. Ocorrência de intoxicações agudas (A) e crônicas (C) p/*P. aquilinum* em bovinos no Estado do Paraná, por município, por região e por mesorregião, em relação aos meses do ano, segundo os formulários para informações sobre intoxicações em animais domésticos - DSA/SEAB. 1985-1988.

REGIÃO (REG)	MUNICÍPIO (MUN)	MESORREGIÃO	JAN A C	FEV A C	MAR A C	ABR A C	MAI A C	JUN A C	JUL A C	AGO A C	SET A C	OUT A C	NOV A C	DEZ A C	TOTAL A	MUNIC. C	TOTAL REG.
Curitiba	Cerro Azul	1	-	-	1	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	4	6
	Lapa	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2	-	
Ponta Grossa	Ponta Grossa	2	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	1	1	17
	Reserva	2	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	
	Sengês	2	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3	
	Tibagi	2	-	3	-	1	-	1	-	1	-	4	-	-	-	11	
Guarapuava	Pitanga	3	-	2	-	1	-	1	-	1	-	2	-	-	3	6	9
Fco Beltrão	Fco Beltrão	4	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
	Planalto	4	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	
Jacarezinho	Ibaiti	6	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	13
	Jacarezinho	6	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2	
	Pinhalão	6	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
	Ribeirão Claro	6	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1	
	Salto do Itararé	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	
	Sant.do Itararé	6	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	
	S.José Boa Vista	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2	
	Siqueira Campos	6	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
	Tomazina	6	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	
	Wenceslau Braz	6	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	
Londrina	Jaguapitã	5	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	
Umuarama	Douradina	7	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	8
	Icaraíma	7	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	2	
	Maria Helena	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	2	
	Rondon	7	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	
	Umuarama	7	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	
	Xambrê	7	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	
Campo Mourão	Cianorte	7	-	-	-	3	-	2	-	-	-	-	-	1	-	6	6
Cascavel	Cascavel	3	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2	3
	Guaraníçu	3	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	
Ivaiporã	Cândido Abreu	2	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	2	2
Total Intoxicações Agudas			-	-	-	1	-	1	-	2	-	1	-	2	-	10	67
Total Intoxicações Crônicas			-	9	-	5	-	8	-	3	-	8	-	2	-	2	

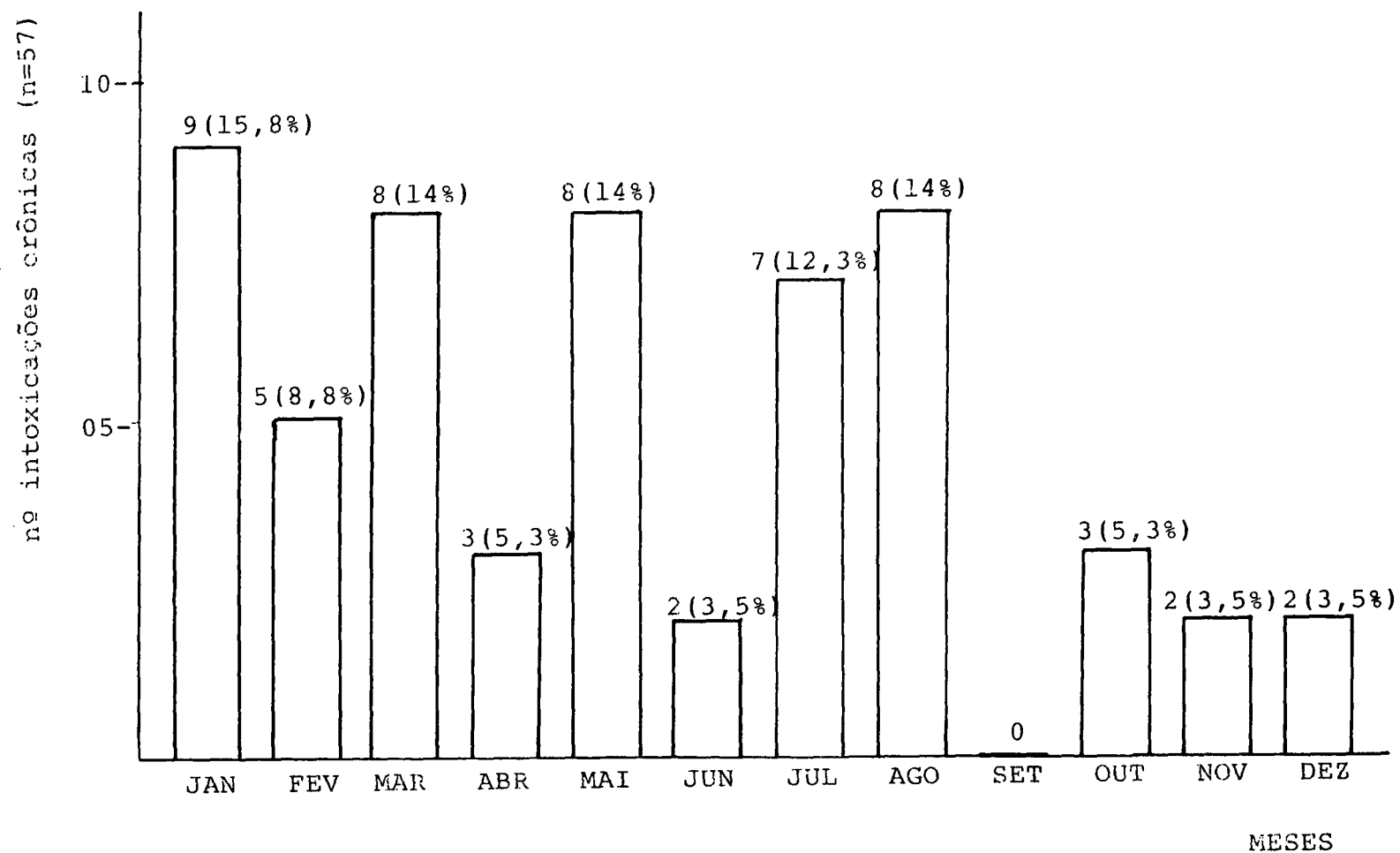


Figura 4. Intoxicações crônicas por *P. aquilinum* em bovinos no Estado do Paraná por meses do ano, segundo Formulários para Informações sobre Intoxicações em Animais Domésticos DSA/SEAB. 1985-1988.

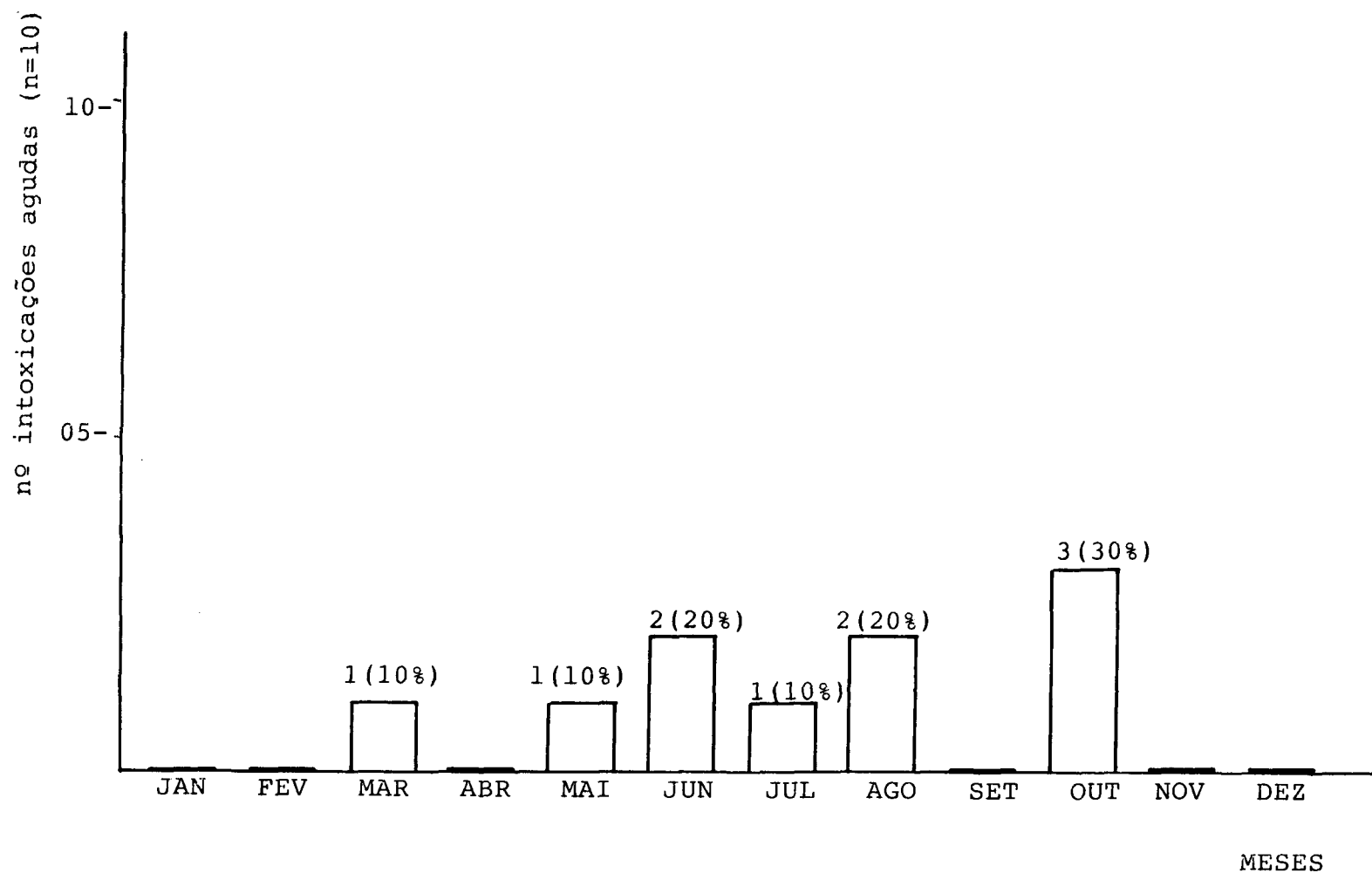


Figura 5. Intoxicações agudas por *P. aquilinum* em bovinos no Estado do Paraná por meses do ano, segundo Formulários para Informações sobre Intoxicações em Animais Domésticos - DSA/SEAB. 1985-1988.



A Tabela III mostra apenas os casos de intoxicação crônica notificados (57 casos) por município, por região e por mesorregião, de acordo com os sinais clínicos correspondentes à Hematúria Enzoótica e à presença de carcinoma no trato digestivo superior. Dos 38 casos clínicos de Hematúria Enzoótica notificados, 12 (31,6%) mostravam também sinais clínicos compatíveis com a presença de carcinoma no trato digestivo superior, demonstrando uma associação entre essas duas lesões ( $\chi^2_{0.5} = 21,22^*$ ).

Os quadros clínicos descritos, bem como os procedimentos geralmente adotados e o número de animais intoxicados e mortos são apresentados na Tabela IV.

Foi observada uma associação entre os casos agudos e a intensidade de ocorrência da *P. aquilinum* ( $\chi^2_{0.5} = 12,03^*$ ) e dos casos de Hematúria Enzoótica e de carcinoma no trato digestivo superior com as mesorregiões ( $\chi^2_{0.5} = 16,03^*$  e  $\chi^2_{0.5} = 13,39^*$  respectivamente).

O maior número de casos agudos ocorreu em municípios com intensidade de ocorrência da *P. aquilinum* considerada de moderada a alta e entre eles destaca-se Pitanga com o maior número de casos agudos (3 casos - 30%) e pela intensidade de ocorrência da planta.

O maior número de casos de Hematúria Enzoótica e de carcinoma no trato digestivo superior foi notificado na região de Ponta Grossa.

Em relação às mesorregiões, o maior número de casos clínicos de Hematúria Enzoótica foi notificado na mesorregião 7 (12 casos - 31,6%) e o maior número de casos clínicos compatíveis com a presença de carcinoma no trato digestivo superior foi notificado na mesorregião 2 (13 casos - 41,9%). Não houve

Tabela III. Casos clínicos de Hematúria Enzoótica e de carcinoma no trato digestivo superior em bovinos no Estado do Paraná, por município, por região e por mesorregião, segundo os Formulários para Informações sobre Intoxicações em Animais Domésticos - DSA/SEAB. 1985-1988.

REGIÃO (REG)	MESORREGIÃO	HEMATÚRIA ENZOÓTICA	CARCINOMA NO TRATO DIGESTIVO SUPERIOR	TOTAL MUN.	DE CASOS REG.
Curitiba	Cerro Azul	1	-	4	4
Ponta Grossa	Ponta Grossa	2	-	1	
	Reserva	2	1	1	
	Sengés	2	3 (1)*	3	
	Tibagi	2	5 (3)*	11	16
Guarapuava	Pitanga	3	5 (1)*	2	6
Fcº Beltrão	Fcº Beltrão	4	1	-	1
	Planalto	4	1	-	1
Jacarezinho	Jacarezinho	6	1 (1)*	2	2
	Ribeirão Claro	6	1 (1)*	1	1
	Salto do Itararé	6	1	-	1
	Sant.do Itararé	6	1	-	1
	S.José da Boa Vista	6	1	1	2
	Siqueira Campos	6	1	-	1
	Wenceslau Braz	6	-	1	9
Londrina	Jaguapitã	5	1 (1)*	1	1
Umuarama	Douradina	7	1	-	1
	Icaraíma	7	1	1	2
	Maria Helena	7	2 (1)*	1	2
	Rondon	7	1	-	1
	Umuarama	7	1 (1)*	1	1
	Xambrê	7	1	-	1
Campo Mourão	Cianorte	7	5 (2)*	3	6
Cascavel	Cascavel	3	2	-	2
	Guaraniaçu	3	1	-	1
Ivaiporã	Cândido de Abreu	2	-	2	2
Total de Diagnósticos		38	(12)*	31	57

\*Casos com sinais clínicos comuns à Hematúria Enzoótica e à presença de neoplasia no trato digestivo superior. Dos 38 diagnósticos clínicos de hematúria enzoótica, em 12 (31,6%) observaram-se sinais clínicos compatíveis com a presença de carcinoma no trato digestivo superior associados.

Tabela IV. Quadros clínicos e número de bovinos intoxicados e mortos e procedimentos adotados nos casos de intoxicação aguda por *P. aquilinum*, de Hematúria Enzoótica e de carcinoma no trato digestivo superior em bovinos no Estado do Paraná, segundo os Formulários para Informações sobre Intoxicações em Animais Domésticos - DSA/SEAB. 1985-1988.

INTOXICAÇÃO	Nº CASOS	QUADRO CLÍNICO DESCRITO	PROCEDIMENTOS	ANIMAIS INTOXICADOS	ANIMAIS MORTOS
Aguda	10	Apatia, anorexia, febre, mucosas pálidas com petéquias, sialorréia, sangramento pelos orifícios naturais, estrias de sangue nas fezes, diarréia fétida e sanguinolenta, decúbito e morte.	Terapia com antitóxicos, anti-hemorragicos, antiespasmódicos, antibióticos, analgésicos, hidratantes parenterais, quimioterápicos contra piroplasma.	84	78 (92,9%)
Hematúria Enzoótica	38	Hematúria intermitente ou contínua, mucosas pálidas, apatia, anorexia, emagrecimento progressivo, caquexia, manchas de sangue nos posteriores, decúbito e morte.	Terapia com antitóxicos, anti-inflamatórios, anti-hemorragicos, antibióticos, Fe, Polivitamínicos, Diuréticos, Ca, Hidratantes Parenterais, Quimioterápicos contra Piroplasma, retirada dos pastos com <i>P. aquilinum</i> ; abate no início dos sinais.	202	97 (44,1%)
Carcinoma no Trato Digestivo Superior	31	Apatia, anorexia, emagrecimento, sialorréia, disfagia, dispnéia, estiramento do pescoço, respiração ruidosa, "rouquidão", corrimento nasal com material regurgitado, aumento de volume na região cervical ventral anterior, tosse, timpanismo crônico, morte.	Terapia com antitóxicos, anti-inflamatórios, antibióticos, polivitamínicos, hidratantes parenterais, atipânicos, óleo canforado, Ca; punção rumenal; passagem de sonda esofageana; abate no início dos sinais.	44	33 (75,0%)
TOTAL	67			330	208 (63,0%)

associação de ocorrência de Hematúria Enzoótica e de carcinomas no trato digestivo superior com a intensidade de ocorrência da *P. aquilinum*, assim como não se observou uma associação entre o tipo de exploração e o tipo de pastagem predominante nos municípios estudados com o número de casos clínicos notificados de qualquer das três manifestações consideradas.

#### 4.1.2.2 Análise dos diagnósticos anátomo-patológicos

Os diagnósticos na bexiga e de papiloma e/ou carcinoma espinocelular no trato digestivo superior em bovinos, registrados durante o período de julho de 1981 a dezembro de 1988 nos livros de registros da Seção de Anatomia Patológica - CDME, são representados por município, por região e por mesorregião, na Tabela V. Os mesmos dados, incluindo diagnósticos de lesões inflamatórias aguda e crônicas na bexiga no mesmo período estão distribuídos por ano na Tabela VI. Os diferentes tipos de neoplasias na bexiga diagnosticados, assim como a frequência de ocorrência no período analisado estão demonstrados na tabela VII.

Foi observada uma associação dos diagnósticos de neoplasia na bexiga com as mesorregiões ( $\chi^2_{0,5} = 15,08^*$ ). Todas as mesorregiões registraram diagnósticos dessas lesões, sendo que o maior número foi registrado na mesorregião 7 (11 casos-40,7%).

Considerando-se os municípios, o maior número de diagnósticos anátomo-patológicos de neoplasia na bexiga foi registrado no município de Curitiba (5 casos-18,5%) e de Cianorte (4 casos-14,8%).

Observou-se também uma associação entre os diagnósticos de neoplasias na bexiga e de carcinoma no trato digestivo superior ( $\chi^2_{0,5} = 31,47^*$ ).

Tabela V. Diagnósticos de neoplasias na bexiga e no trato digestivo superior em bovinos no Estado do Paraná, por município, por região e por mesorregião, segundo livros de registro da seção de anatomia patológica - CDME.Jul/81 - Dez/88.

REGIÃO (REG)	MUNICÍPIO (MUN)	MESORREGIÃO	NEOPLASIAS DE BEXIGA	NEOPL. TRATO SUP.			TOT. CASOS MUN. REG.
				PAPIL.	CARC. ESP.	CELULAR	
Curitiba	Bocaiúva do Sul	1	-	-	2		2
	Campina G.do Sul	1	-	-	1		1
	Curitiba	1	5	-	-		5
	Piraquara	1	-	-	1		1
P.Grossa	Castro	2	-	-	1		1
	Jaguariaíva	2	-	-	1		1
	Ponta Grossa	2	-	-	1		1
	Sengês	2	-	-	2		2
	Tibagi	2	1*	1*	-		1
Guarapuava	Cantagalo	3	1	-	-		1
	Guarapuava	3	-	-	1		1
	Laranjeiras do Sul	3	-	1	1		2
	Pinhão	3	-	1	-		1
Pato Branco	Clevelândia	4	-	-	1		1
	S.Jorge D'Oeste	4	1	-	-		1
Fc? Beltrao	Eneás Marques	4	-	-	2		2
Jacarezinho	Figueira	6	1	-	-		1
	Ibaiti	6	-	1	-		1
Londrina	Jaguapita	5	2 **	-	1 **		2
Paranavaí	Terra Rica	8	1	-	-		1
Umuarama	Cidade Gaúcha	7	1	-	-		1
	Cruz D'Oeste	7	-	-	1		1
	Douradina	7	1 *	1 *	-		1
	Umuarama	7	3	-	-		3
	Xambrê	7	1	-	-		1
C.Mourao	Campina da Lagoa	7	-	-	1		1
	Cianorte	7	4*	2*	2**		4
			**	****	****		
			****				
	Iretama	7	1	-	-		1
	Mamborê	7	-	-	1		1
Ivaipora	Cândido Abreu	2	-	1***	1***		1
	Faxinal	5	-	-	2		2
	Ivaiporã	5	1	-	-		1
Toledo	Cafelândia	3	-	-	3		3
Cascavel	Cascavel	3	1	-	-		1
Maringá	Colorado	5	1	-	-		1
	Santo Inácio	5	-	-	1		1
U.da Vitor.	S.Mateus do Sul	1	1	-	-		1
	U.da Vitória	4	-	-	2		2
							56
							56
Total de Diagnósticos			27	8	29		64

- \* Diagnóstico de neoplasia de bexiga associada a papiloma no trato digestivo superior (3 casos)
- \*\* Diagnóstico de neoplasia de bexiga associada a carcinoma no trato digestivo superior (2 casos)
- \*\*\* Diagnóstico de papiloma associado a carc.no trato digest.superior(1 caso)
- \*\*\*\* Diagnóstico de neoplasia de bexiga associada a papiloma e carcinoma no trato digestivo superior (1 caso)

Tabela VI. Lesões inflamatórias e neoplásicas na bexiga e papilomas e carcinomas espinocelulares no trato digestivo superior em bovinos, no Estado do Paraná por ano, segundo livros de registro da Seção de Anatomia Patológica - CDME. Jul/81 - Dez/88.

DIAGNÓSTICO	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	TOTAL DE CASOS
Cistite aguda*	-	1	-	3	-	-	-	-	4
Cistite crônica*	1	-	1	2	2	1	-	1	8
Neoplasia na bexiga	1	4	5	2	4	1	1	9	27
Papiloma	-	-	-	1	3	-	-	4	8
Carcinoma Espinocelular no trato digestivo superior	-	-	4	1	8	3	6	7	29

\*Não associadas a neoplasias na bexiga.

Tabela VII. Neoplasias na bexiga em bovinos no Estado do Paraná, segundo livros de registro da Seção de Anatomia Patológica - CDME. Jul/1981 - Dez/1988.

NEOPLASIAS	EPITELIAIS				MESENQUIMAIS			
	BENIGNAS		MALIGNAS		BENIGNAS		MALIGNAS	
	Ad	3	Adc	10	Hm	3	Hms	2
	P	7	CCT	5	M	4		
			CEc	5				
			CI	2				
			Cis	1				
Total de Diagnósticos		10		23		7		2
				33				9
								42

Ad adenoma; Adc adenocarcinoma; CCT carcinoma de células de transição; CEc carcinoma espinocelular; CI carcinoma indiferenciado; Cis carcinoma *in situ*; Hm hemangioma; Hms hemangiossarcoma; M mixoma; P papiloma.

Não foram observadas associações de nenhuma das manifestações crônicas com o tipo de pastagem predominante ou com a intensidade de ocorrência da planta.

Foram considerados também nesta análise os diagnósticos anátomo-patológicos de papiloma no trato digestivo superior, porém não foi observada nenhuma associação com qualquer dos fatores analisados.

## 4.2 ESTUDO ANÁTOMO-PATOLÓGICO

### 4.2.1 Considerações gerais

Dos 39 casos de intoxicação por *P. aquilinum* notificados durante o período de vigilância, 16 foram necropsiados, todos com manifestações crônicas, em 16 propriedades. Sete dessas necrópsias foram realizadas pelo autor e as demais pelos Médicos Veterinários responsáveis pelos casos; 11 desses bovinos foram sacrificados e os demais tiveram morte natural.

Todos os bovinos necropsiados eram fêmeas com idade entre 2,5 e 13 anos (média de 6 anos) e mostravam sinais clínicos compatíveis com a Hematúria Enzoótica e/ou com a presença de carcinoma no trato digestivo superior.

Os sinais clínicos relacionados à Hematúria Enzoótica apresentados pelos animais eram hematúria de intensidade variável, intermitente ou contínua, manchas de sangue nos membros posteriores, mucosas pálidas e mau estado nutricional até a caquexia.

Os sinais clínicos relacionados com a presença de carcinoma no trato digestivo superior correspondiam a mau estado nutricional, disfagia, regurgitação, timpanismo e obstrução esofágica persistente, dispnéia, respiração ruidosa ("ronquei-



ra") e tosse.

Em uma das propriedades estudadas, no município de Jaguapitã, além da Hematúria Enzoótica e de carcinoma no trato digestivo superior, constatou-se ainda a ocorrência de intoxicação aguda por *P.aquilinum* em pelo menos 2 bezerros de 1,5 anos que mostravam lacrimejamento, corrimento nasal muco-hemorrágico, fezes, às vezes diarréicas, com estrias e coágulos de sangue, pelagem arrepiada e morte, segundo o criador, em aproximadamente 30 horas. A pastagem nessa propriedade estava bastante prejudicada e mostrava muitos brotos de *P.aquilinum* com a ponta aparada.

Das 16 propriedades estudadas, 14 tinham *P.aquilinum* em vários estágios de crescimento, geralmente próxima a cercas, matas e aguadas ou em áreas de mais difícil acesso aos animais, mas também infestando pastagens, onde eram encontrados brotos com as pontas aparadas. Das duas propriedades restantes, uma delas, no município de Clevelândia, foi assistida por Médico Veterinário da iniciativa privada que não mencionou a existência da planta. A outra, no município de Cafelândia, a *P.aquilinum* foi erradicada aproximadamente 1,5 anos antes do início da hematúria em uma vaca. Neste caso, o estado desse animal não se alterou, tendo gerado um bezerro e produzido leite normalmente, durante o período de 1 ano até o seu sacrifício; a necrópsia e o exame histopatológico revelaram a presença de papiloma e hemangioma na bexiga.

Em pelo menos 3 das 16 propriedades estudadas (18,75%) existiam casos de Papilomatose cutânea.

#### 4.2.2 Achados de necrópsia

A necrópsia dos 16 animais revelou, ao exame externo, mau estado nutricional em diferentes graus até a caquexia, mucosas pálidas, vestígios de sangue na pelagem da cauda e dos membros posteriores e, em um dos casos, aumento de volume localizado, flutuante e de consistência firme na região submandibular.

Ao exame interno, 12 (75%) dos 16 animais mostravam lesões na bexiga que se traduziam principalmente por alterações de natureza vascular, ulcerativa ou proliferativa em diversos graus de intensidade. As alterações vasculares consistiam de dilatação dos vasos sanguíneos a pontos, estrias e áreas circunscritas de coloração vermelha (hemorragia), muitas vezes de natureza focal, salientes (hematomas, hemangiomas), e com sangue coagulado aderido à superfície. A coloração da urina variava de amarelo âmbar a vermelho intenso, às vezes com a presença de coágulos de sangue. As alterações de natureza proliferativa consistiam de formações circunscritas salientes, sésseis ou pedunculadas, geralmente múltiplas, medindo entre 1 a 7 cm de diâmetro, de coloração mais clara a avermelhada, na mucosa vesical, até severa infiltração neoplásica difusa envolvendo o colo da bexiga e invadindo também os tecidos conjuntivo e muscular e os linfonodos ilíaco interno, sublombar e, inclusive, os supra-mamários. Em alguns casos observou-se espessamento da parede vesical, às vezes formando saliência focal na superfície serosa que também mostrava sinais de hemorragia e lesões circunscritas de aspecto ulcerado, coloração escura e bordos salientes na mucosa vesical (carcinoma espinocelular).

Doze dos animais necropsiados (75%) mostravam lesões no trato digestivo superior. Na base da língua observaram-se desde pequenas estruturas papiliformes na mucosa até infiltração

por tecido neoplásico de aspecto granular e coloração amarelada sob o epitélio (carcinoma espinocelular). Em 2 casos observou-se na região submandibular a presença de estruturas encapsuladas, uma delas constituindo um abscesso com densa cápsula conjuntiva e com acentuado edema dos tecidos adjacentes; no outro caso, a estrutura era constituída por tecido neoplásico e havia um aumento de volume bilateral das glândulas salivares mandibulares. No faringe, mais especificamente na mucosa do oro e laringo-faringe, observaram-se formações papilomatosas e lesões de aspecto ulcerado revestidas por tecido de aspecto granular de coloração amarela a marrom-esverdeada e consistência firme que infiltrava também os tecidos adjacentes. Em pelo menos dois casos observou-se proliferação neoplásica do epitélio que reveste a epiglote. O exame do esôfago permitiu a observação de estruturas papiliformes e de lesões de aspecto ulcerado revestidas por tecido de consistência dura e coloração esverdeada, principalmente no seu terço craneal; espessamento da parede e estenose no seu terço médio e presença de massa tumoral de aproximadamente 20 cm de diâmetro com superfície ulcerada e de aspecto necrótico envolvendo o cárdia (carcinoma espinocelular).

Pelo menos 8 (66,7 %) dos 12 casos que mostravam lesões na bexiga, mostravam também lesões no trato digestivo superior.

Dos 12 animais com alterações no trato digestivo superior pelo menos 3 (25%) mostravam alterações no aparelho respiratório, com presença de líquido muco-espumoso amarelado na traquéia e muco avermelhado com grumos branco-amarelados e áreas difusas de coloração vermelha escura e consistência firme no parênquima pulmonar (hepatização, pneumonia), nítida delimitação lobular (edema intersticial) e algumas áreas claras e salien-

tes (enfisema alveolar).

Em pelo menos 2 casos (12,5 %), foi observada infiltração neoplásica metastática em linfonodos. Um dos casos mostrava severo comprometimento do linfonodo mandibular direito e o outro dos linfonodos próximos à bexiga. Em ambos os casos os linfonodos mostravam aumento de volume, forma irregular, consistência firme e, ao corte, eram constituídos por tecido não homogêneo, de coloração branco-amarelada com áreas mais escuras de aspecto quebradiço, farináceo. Os três casos que mostravam alterações no aparelho respiratório tinham os linfonodos mediastínicos aumentados de volume e de aspecto edematoso ao corte (linfadenite).

As alterações macroscópicas observadas no fígado consistiam de alterações de coloração, às vezes de volume e, em um dos casos, da presença de infiltração neoplásica acentuada, tomando praticamente todo o parênquima hepático (metástase de carcinoma espinocelular primário no cárdia).

Os rins, com exceção de um caso que mostrava pequenas formações císticas de aproximadamente 2mm de diâmetro na superfície, não mostraram nos demais casos alterações macroscópicas importantes.

#### 4.2.3 Achados histopatológicos

Das 16 necrópsias realizadas foram colhidas amostras de órgãos para exame histopatológico. Como as alterações macroscópicas observadas eram, geralmente, múltiplas e de aspecto variado, de um mesmo órgão foram colhidas amostras de todas as alterações que mostravam aspecto macroscópico diferente, sendo preparadas um total de 112 lâminas para exame histopatológico.

Microscopicamente, as lesões na bexiga eram de natureza

inflamatória, ulcerativa, proliferativa e/ou neoplásica.

As alterações de caráter inflamatório agudo isoladas não eram freqüentes e traduziam-se basicamente por hiperemia e edema, às vezes acompanhados de infiltração por polimorfonucleares, principalmente no córion. As alterações de caráter inflamatório crônico caracterizavam-se por infiltração inflamatória de intensidade variável, focal ou difusa, onde predominavam células inflamatórias monomorfonucleares associada a hiperplasia focal ou difusa do epitélio e aparente proliferação dos vasos sanguíneos do córion, que mostravam-se dilatados e congestos (ectasia vascular). Essas alterações inflamatórias sempre acompanhavam as alterações neoplásicas.

Foi possível observar degeneração vacuolar, erosão e, por vezes, ulceração do epitélio, expondo vasos do córion. Migração de hemácias através do epitélio intacto, focos de hemorragia e grupos de macrófagos contendo hemossiderina no córion, também podiam ser observados, bem como a deposição de sangue coagulado e fibrina na superfície luminal nos casos mais severos de hemorragia.

As lesões neoplásicas benignas na bexiga estavam representadas por papilomas (6 casos), adenoma (1 caso) e hemangioma (2 casos). As lesões neoplásicas malignas encontradas foram adenocarcinomas (4 casos); carcinomas de células de transição (2 casos); carcinoma espinocelular (1 caso); carcinoma indiferenciado (1 caso); carcinoma *in situ* (1 caso) e hemangiossarcomas (3 casos). Com freqüência observaram-se mais de um tipo de neoplasia associado. Um dos carcinomas de células de transição mostrava alto grau de anaplasia, sinais de metaplasia escamosa e metástase em linfonodos regionais. O outro, pouco anaplásico, também mostrava metaplasia escamosa e glandular.

As lesões observadas no trato digestivo superior constituíam-se de desde simples hiperplasia epitelial com hiperqueratose e paraqueratose focais, erosão e ulceração do epitélio até lesões neoplásicas representadas por papilomas (10 casos) e carcinomas espinocelulares (8 casos). A presença de papiloma estava associada a 6 (75%) dos 8 casos de carcinoma espinocelular. Estes carcinomas, de maneira geral, eram bem diferenciados com queratinização abundante, embora nem sempre arranjada em pérolas córneas, e mostravam denso estroma conjuntivo, às vezes, envolvendo nervos (Fig.6). Em alguns casos observou-se infiltração neoplásica nas tonsilas palatinas (Fig. 7).

Metástases dos carcinomas espinocelulares foram observadas em dois casos, em um deles em linfonodos regionais e no outro no fígado e neste caso o carcinoma primário era localizado no cárdia.

As alterações no trato digestivo superior estavam sempre acompanhadas de infiltração inflamatória de intensidade variável, com predomínio de células inflamatórias monomorfonucleares. Em 6 dos 8 casos de carcinoma espinocelular, observou-se também a presença marcante de eosinófilos e, principalmente, em lesões ulceradas e necróticas observou-se a presença de polimorfonucleares associada a colônias de bactérias e a fragmentos de fibra vegetal. Reação inflamatória granulomatosa foi observada em 3 casos, envolvendo fragmentos de fibra vegetal ou pérolas córneas.

Dos 12 casos de neoplasia na bexiga, 4 (33,3 %) estavam associados a carcinoma espinocelular no trato digestivo superior e 7 (58,3 %) estavam associados a papilomas no trato digestivo superior.



Figura 6. Carcinoma espinocelular atribuído à ingestão de *P. aquilinum* no faringe de bovino. Compressão de nervo pelo estroma conjuntivo. H-E. Obj. 10x.



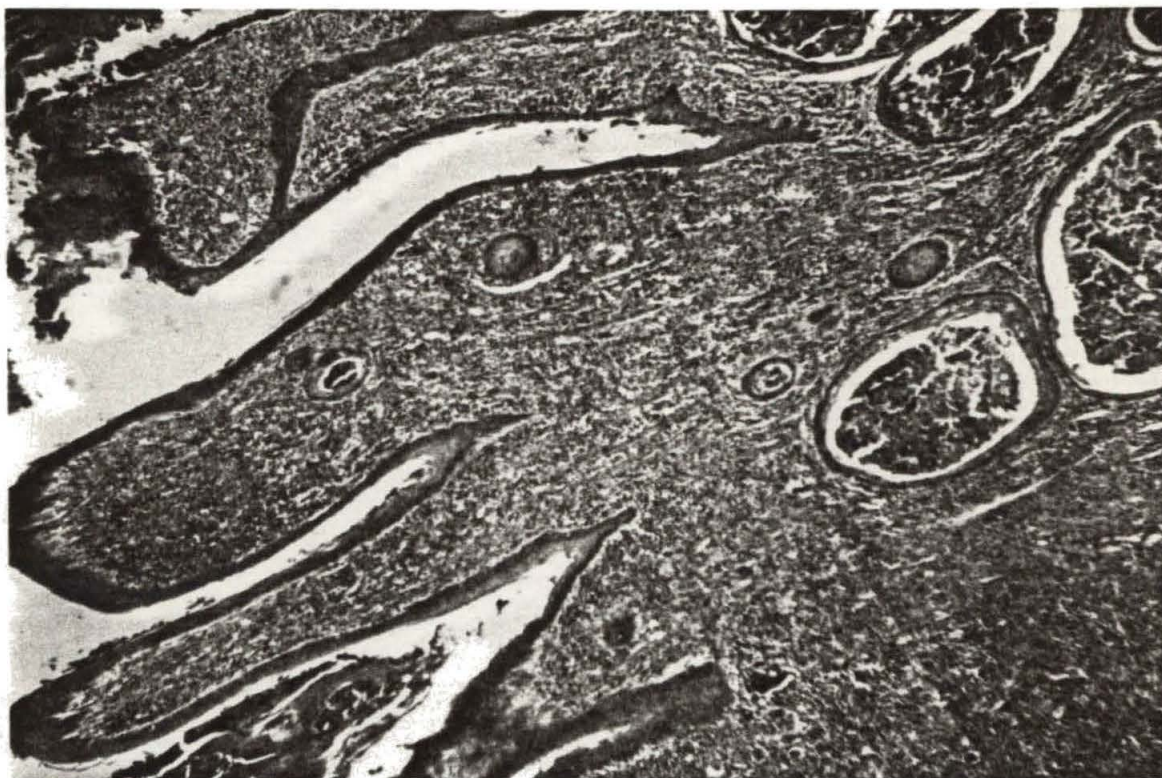


Figura 7. Carcinoma espinocelular atribuído à ingestão de *P. aquilinum* na tonsila palatina de bovino. H-E. Obj. 4x.



Nas áreas de hiperplasia do epitélio e nos papilomas foi possível observar uma tumefação e acentuada vacuolização do citoplasma das células da camada média com a presença de algumas formas bizarras e, às vezes, marginação da cromatina nuclear, sem que fossem observadas inclusões intranucleares.

O exame histopatológico de algumas amostras de glândulas salivares, sublinguais ou mandibulares, revelou edema, hemorragia, sinais de obstrução com dilatação da luz de ácinos e ductos, discreta metaplasia escamosa do epitélio, presença de restos celulares e micrólitos na luz e proliferação de tecido conjuntivo intersticial.

Três dos seis bovinos com carcinoma espinocelular localizado no faringe mostravam sinais de pneumonia crônica, purulenta ou granulomatosa, resultante de aspiração de ingesta.

As alterações observadas no fígado, examinado em 6 casos, eram geralmente discretas e traduziam-se por tumefação celular difusa, anisocariose, degeneração gordurosa, necrose centrolobular e, em alguns casos, retenção biliar e discreta proliferação de tecido conjuntivo. Em uma das amostras observou-se a presença de um hemangioma e, em outra, infiltração metastática por células epiteliais neoplásicas com denso estroma conjuntivo.

Os rins examinados em 5 casos, mostravam alterações degenerativas com tumefação celular, aumento da eosinofilia e vacuolização do citoplasma das células do epitélio tubular, com presença de material de aspecto homogêneo ou espumoso, eosinofílico na luz de túbulos. Discreto espessamento da membrana basal da cápsula de Bowman e dos capilares glomerulares foi observado em todos os casos examinados. E, finalmente, alguns casos mostravam sinais de hemorragia, micrólitos na região

medular e discretos focos de infiltração inflamatória por células monomorfonucleares.

Os diagnósticos das neoplasias na bexiga e no trato digestivo superior estão sumarizados na Tabela VIII.

#### 4.3 PESQUISA DO PAPILOMAVÍRUS

A pesquisa do papilomavírus, através da técnica imuno-histoquímica de P.A.P., foi realizada em 34 lâminas correspondentes a lesões proliferativas (hiperplásicas ou neoplásicas), (Fig. 8 e 9), fixadas em formalina a 10% e incluídas em parafina, observadas na bexiga e/ou no trato digestivo superior em 15 dos 16 bovinos necropsiados durante o ano de vigilância. Um dos casos foi eliminado desta etapa por mostrar intensos sinais de autólise *post mortem*.

Não foi possível constatar a presença dos antígenos estruturais específicos do gênero Papilomavírus em nenhuma das amostras testadas (Fig. 10).

Os controles reagiram conforme o esperado em todas as séries testadas (Fig. 11 e 12).

Durante o processamento muitas amostras descolavam-se das lâminas e precisaram ser repetidas.

Tabela VIII. Lesões neoplásicas na bexiga e no trato digestivo superior, em bovinos, no Estado do Paraná, segundo livros de registro da Seção de Anatomia Patológica - CDME. Dez/1987 - Dez/1988.

CASO	BEXIGA	TRATO DIGESTIVO SUPERIOR				METÁSTASE
		BASE DA LÍNGUA	FARINGE	ESÔFAGO	CÁRDIA	
01	-	CEc	CEc	-	-	-
02	CCT	-	-	-	-	linfonodo
03	*	CEc	-	P/CEc	-	-
04	Hms	-	-	-	CEc	fígado
05	-	P/CEc	CEc	P	-	linfonodo
06	P/CCT	P	-	-	-	-
07	CI	P/CEc	CEc	CEc	-	-
08	P	P	-	P	-	-
09	Adc/CEc/Hms	-	-	P	-	-
10	P/Adc	-	-	P	-	-
11	P/Adc	P/CEc	CEc	CEc	-	-
12	Adc	*	*	*	*	-
13	-	P/CEc	CEc	-	-	-
14	P/Hm	*	*	*	*	-
15	P/Hm	*	*	*	*	-
16	Ad/Ci s/Hms	-	P/CEc	-	-	-

Ad adenoma; Adc adenocarcinoma; CCT carcinoma de células de transição; CEc carcinoma espinocelular; CI carcinoma indiferenciado; Cis carcinoma *in situ*; Hm hemangioma; Hms hemangiossarcoma; P papiloma; -sem alterações; \* órgãos não enviados.

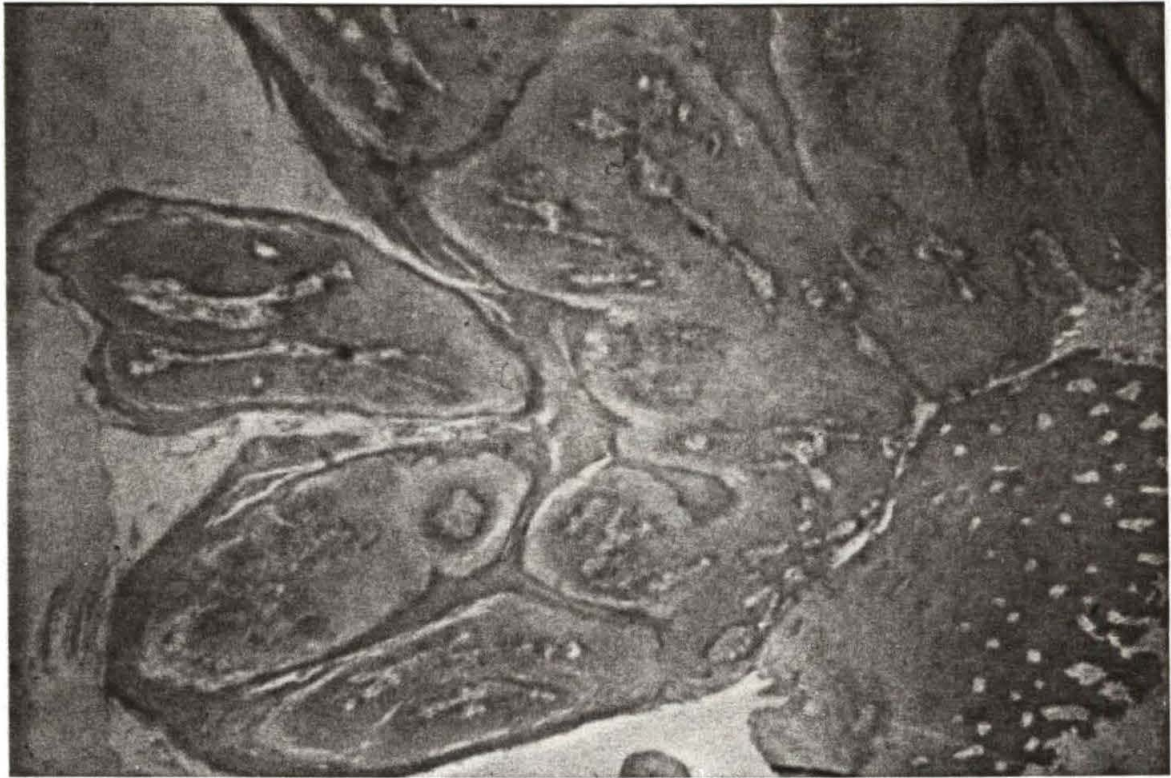


Figura 8. Papiloma associado a carcinoma espinocelular atribuído à ingestão de *P. aquilinum* no faringe de bovino. H-E. Obj. 4x.



Figura 9. Detalhe da figura anterior mostrando vacuolização das células da camada média do epitélio. H-E. Obj. 10x.



Figura 10. Mesma lesão da figura anterior. Negativa para pesquisa de papilomavírus (comparar com Fig.11 e 12). H-E. Obj. 4x.



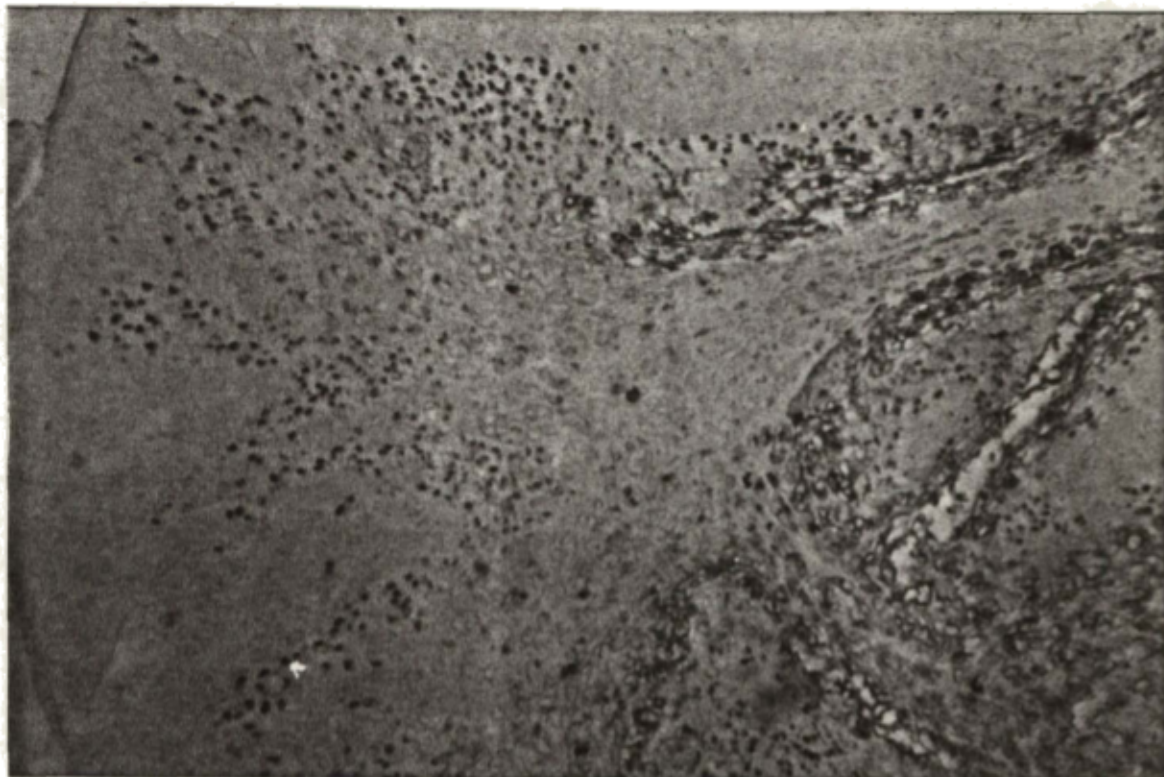


Figura 11. Controle positivo(verruga plantar humana, fixada em Carnoy). Os núcleos fortemente corados são positivos para a presença de papilomavírus. P.A.P. Obj. 10x.

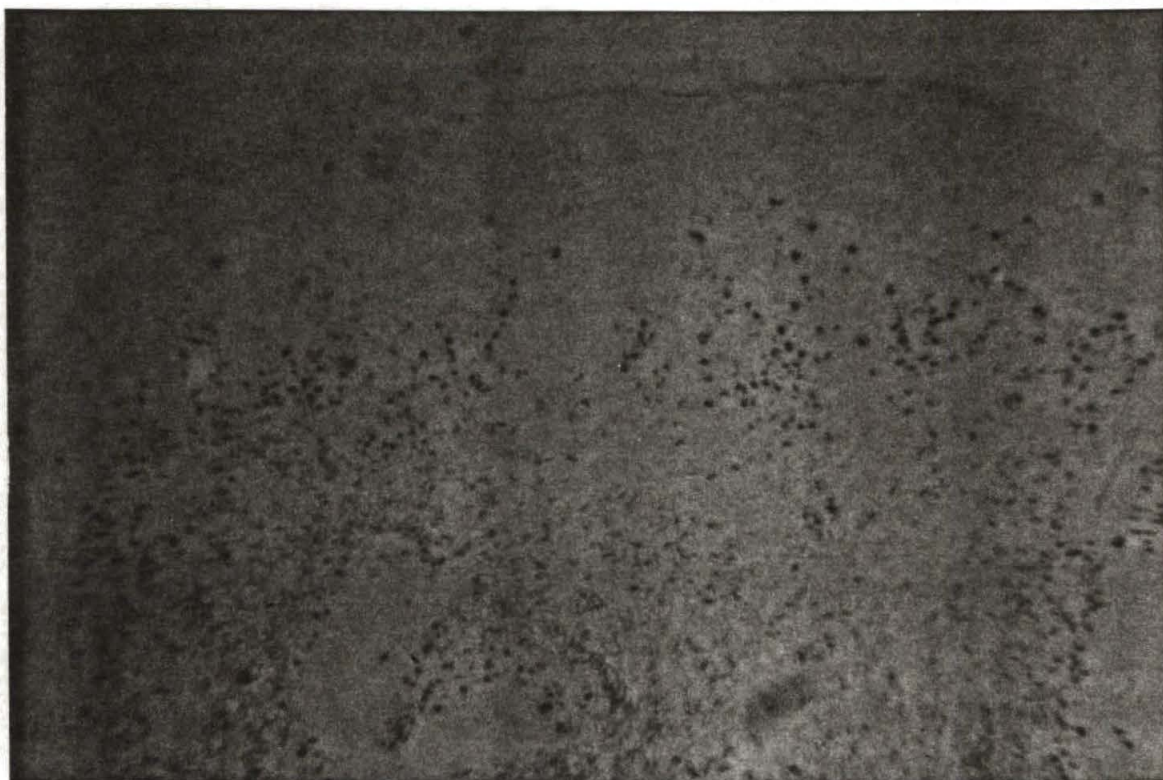


Figura 12. Controle positivo (fibropapiloma no teto de bovino, fixado em formalina a 10%). Os núcleos fortemente corados são positivos para a presença de papiloma-vírus. P.A.P. Obj.10x.



## V. DISCUSSÃO

A intensidade de ocorrência da *P.aquilinum* foi considerada alta nos municípios onde estimou-se que mais de 75% das propriedades tinham pastagens infestadas pela planta; moderada, nos municípios com 50 a 75% das propriedades com pastagens infestadas; baixa, naqueles com 25 a 50% das propriedades com pastagens infestadas; discreta, onde a incidência da planta nas pastagens atingia menos de 25% das propriedades ou a planta estava presente apenas em áreas restritas, geralmente, sem o acesso de animais (matas, beiras de estradas, etc.) e, finalmente, a planta foi considerada inexistente, quando sua presença não foi registrada pelo Médico Veterinário responsável pelo município.

Considerando-se apenas os 109 municípios notificados, a intensidade de ocorrência da planta foi menor naqueles onde, segundo os Médicos Veterinários responsáveis, predominava a exploração da pecuária de leite ou mista, talvez em função do manejo mais intensivo das pastagens adotado nesses tipos de exploração, evidenciando dessa forma, a influência da ação do homem sobre a incidência da *P.aquilinum*.

A associação observada entre a ocorrência de casos de Hematúria Enzoótica e as mesorregiões, a despeito da intensidade de ocorrência da *P.aquilinum*, indica que o conjunto de condições ambientais, próprios de cada mesorregião, pode estar

atuando sobre a toxicidade da planta e talvez alterando a composição ou a concentração de seus princípios tóxicos. Assim, o maior número de diagnósticos clínicos e anátomo-patológicos de Hematúria Enzoótica registrado na mesorregião 7 que corresponde às regiões administrativas de Umuarama e Campo Mourão reflete, talvez, um conjunto de condições de solo, de relevo, de clima e de vegetação, próprios dessa mesorregião, que podem estar influenciando a maior ocorrência de casos de Hematúria Enzoótica. Contudo, tendo em vista o pequeno número de informações recebidas de determinadas regiões ou mesorregiões, essas associações devem ser consideradas com reserva, como tendências passíveis de comprovação futura.

Apesar da intensidade predominante de ocorrência da *P. aquilinum* nos municípios notificados ter sido considerada de baixa (34 municípios - 31,2%) a discreta (39 municípios-35,8%), a presença da planta foi registrada em 14 (77,8%) das 18 regiões administrativas do Estado do Paraná, representando as 8 mesorregiões existentes. Embora sua presença não tenha sido registrada, através da remessa de amostras da planta ou da notificação de sua ocorrência, nas regiões de Cascavel, União da Vitória, Irati e Maringá, os registros no livro da Seção de Anatomia Patológica do CDME mostram diagnósticos das lesões crônicas atribuídas a ingestão da *P. aquilinum* em três dessas regiões, ou sejam, Cascavel, União da Vitória e Maringá. Nestes casos, duas possibilidades poderiam ser consideradas: ou tais lesões tiveram outras causas ou a ocorrência da planta, por qualquer razão, deixou de ser notificada nessas regiões. Esta última é bem mais provável, tendo em vista a ampla distribuição geográfica e a ocorrência da planta nas regiões vizinhas. Além disso, a ocorrência da *P. aquilinum*, apesar de não notificada,

foi constatada pelo autor nos municípios de União da Vitória e Cascavel.

Os municípios de Lunardelli, São João do Ivaí, São Pedro do Ivaí e Jussara, onde, segundo os Médicos Veterinários responsáveis pelas UVs, não existe a *P. aquilinum*, não registraram qualquer das manifestações atribuídas a ingestão da planta no período de 1981 a 1988, embora nenhum caso tenha sido também registrado em municípios como São Jerônimo da Serra, Telêmaco Borba, Palmital, Guaratuba, Matinhos e Paranaguá, onde a ocorrência da *P. aquilinum* foi considerada alta.

O relato da ocorrência de apenas uma subespécie e duas variedades de *P. aquilinum* em toda a América do Sul e a necessidade de mais amostras da planta para um estudo mais profundo de sua prevalência e taxonomia, além da possível influência que esses fatores podem ter sobre a toxicidade da planta, motivaram o levantamento de amostras de *P. aquilinum* de todas as regiões do Estado. Porém, devido às dificuldades taxonômicas do gênero *Pteridium*, uma classificação mais acurada não foi possível, ao menos até o momento, ficando os exemplares depositados no Museu Botânico Municipal aguardando posterior classificação em subespécie e variedade.

Através da análise dos Formulários para Informações sobre Intoxicações em Animais Domésticos, foi possível observar que a *P. aquilinum*, além de sua ampla distribuição, foi também a planta responsável pelo maior número de intoxicações em animais domésticos no Estado do Paraná, não só durante o ano de vigilância (1988), mas também nos demais anos estudados, o que a coloca em lugar de destaque entre as plantas tóxicas no Estado. O número maior de notificações de casos de intoxicações pela *P. aquilinum* registrado no ano de vigilância repre-

senta melhor a realidade e deve-se, talvez, muito mais ao estímulo a vigilância do que a um aumento real do número de casos nesse ano, visto que, nos anos anteriores, muitos casos podem não ter sido notificados por ocorrerem em áreas endêmicas, onde o problema é conhecido a longo tempo, ou por não terem sido diagnosticados como intoxicação.

Todos os casos de intoxicação por *P.aquilinum* notificados ocorreram em bovinos, não só nos anos anteriores, como também durante o ano de vigilância, quando os Médicos Veterinários envolvidos já estavam alertados para a possibilidade de sua ocorrência em outras espécies. Apesar do único relato de intoxicação em equídeos no Brasil ter sido registrada no Estado do Paraná (DINIZ *et al.*, 1984) essa parece ter sido uma ocorrência excepcional.

Para efeito deste estudo foram considerados como manifestações crônicas da intoxicação pela *P.aquilinum* em bovinos os casos de Hematúria Enzoótica e os casos de carcinoma espinocelular no trato digestivo superior nessa espécie, embora estes últimos, apesar do grande número de evidências, não tenham ainda sido reproduzidos experimentalmente através da ingestão da *P.aquilinum*.

Os diagnósticos de neoplasias de bexiga foram considerados como característicos da ocorrência de Hematúria Enzoótica, uma vez que são raros em todos os animais domésticos, inclusive em bovinos fora das áreas endêmicas e são relativamente infreqüentes onde a *P.aquilinum* não é ingerida (prevalência de 0,1% a 0,01%) (PAMUKCU, 1974; BRINGUIER, 1987).

Para designar a porção anterior do trato digestivo revestida por epitélio pavimentoso estratificado utilizou-se o termo "trato digestivo superior" por ser uma denominação con-

sagrada na literatura científica, contudo a denominação de "trato digestivo anterior" seria mais apropriada a animais quadrúpedes, como são os bovinos.

A idade dos bovinos intoxicados, os quadros clínicos e as lesões macro e microscópicas aqui observados são compatíveis com o relatado na literatura científica para os três tipos de manifestação considerados: intoxicação aguda, Hematúria Enzoótica e carcinoma no trato digestivo superior.

Os procedimentos adotados nos casos de intoxicação por *P. aquilinum* não têm sido satisfatórios, tendo em vista a alta letalidade descrita, principalmente nos casos agudos. A letalidade descrita nos casos crônicos, apesar de importante, não exprime a realidade, pois representa apenas a situação no momento da notificação, já que as lesões observadas na forma crônica são neoplásicas, de caráter freqüentemente maligno e espoliativo com uma letalidade de praticamente 100%.

Ao se observar os diagnósticos clínicos de intoxicação por *P. aquilinum*, por região e por mesorregião, no Estado do Paraná, no período de 1985 a 1988, verifica-se que ela foi notificada em 7 mesorregiões, em 10 regiões e em 30 municípios. Um número substancialmente maior de casos de intoxicação crônica foi registrado em Tibagi (11 casos), localizado na região de Ponta Grossa onde, em relação às demais regiões, verificou-se também o maior número de casos totais (17 casos), seguida pela região de Jacarezinho (13 casos) que, apesar de mostrar uma distribuição aparentemente uniforme de casos em seus municípios, registrou a metade dos casos agudos observados no período (5 casos). Além de Tibagi, um número relativamente grande de ocorrências de intoxicação foi notificado nos municípios de Pitanga (3 casos agudos e 6 crônicos) e Cianorte (6 casos crônicos).

Apesar dos registros de diagnósticos clínicos de intoxicação contemplarem 30 (9,6%) dos 311 municípios do Estado do Paraná, os municípios contemplados estão distribuídos de forma aproximadamente uniforme em 10 (55,5 %) das 18 regiões do Estado e em 7 mesorregiões.

Estudando-se a distribuição dos diagnósticos clínicos de intoxicação pela *P. aquilinum* em relação aos meses do ano, no período de 1985 a 1988, observa-se que existe uma distribuição aparentemente uniforme das intoxicações crônicas (57 casos) e, apesar do pequeno número de casos agudos notificados, uma tendência a ocorrerem em meados do ano, concentrando-se principalmente durante os meses de inverno e primavera. Este fato poderia ser explicado pelo mau estado das pastagens nessa época, induzindo os animais a ingerirem brotos e plantas jovens de *P. aquilinum* que representam os estágios mais tóxicos das partes aéreas da planta (MOON & RAAFAT, 1951; EVANS, W.C. *et al.*, 1976; TOKARNIA *et al.*, 1979 b).

O pequeno número de notificações do quadro agudo deve-se, talvez, à dificuldade do reconhecimento desse quadro como sendo uma intoxicação, sendo muitas vezes diagnosticados e notificados como uma doença infecciosa (SIPPEL, 1952).

O número de casos que mostravam sinais clínicos e lesões comuns à Hematúria Enzoótica e à presença de carcinoma no trato digestivo superior reafirma a associação entre esses dois quadros clínicos no Estado do Paraná. Além de poder ser observada em vários municípios, essa associação estava presente em todos os municípios de maior ocorrência de casos crônicos, ou seja, Tibagi (27,3%), Pitanga (16,7 %) e Cianorte (33,3 %).

Em Tibagi observou-se uma predominância da notificação de casos clínicos de carcinoma no trato digestivo superior, en-

quanto que em Pitanga e Cianorte predominou a notificação da Hematúria Enzoótica.

Um dos Médicos Veterinários<sup>1</sup> responsáveis pela U.V. de Tibagi durante o período analisado relatou que a ocorrência de carcinomas na base da língua é alta na região, principalmente em pequenas propriedades onde criadores já estão habituados a enviar os bovinos para abate às primeiras manifestações da doença, e chamou a atenção para o fato de que as lesões macroscópicas por ele observadas na língua eram semelhantes às observadas na Papilomatose cutânea, sugerindo alguma relação entre essas duas lesões. O único caso de neoplasia de bexiga registrado nos livros da Seção de Anatomia do CDME no município de Tibagi está associado ao diagnóstico de papiloma no trato digestivo superior.

Ao se considerar os diagnósticos de neoplasias de bexiga e de papiloma e carcinoma espinocelular no trato digestivo superior registrados nos livros da Seção de Anatomia Patológica do CDME, no período de 1981 a 1988 constatou-se a ocorrência dessas lesões em 4 novas regiões e 28 novos municípios, além dos já registrados pelos Formulários para Informações sobre Intoxicação em Animais Domésticos, ampliando a área de ocorrência dessas manifestações para as 8 mesorregiões, 14 regiões e 54 municípios. O maior número de diagnósticos anátomo-patológicos dessas lesões foi registrado na região de Curitiba (9 casos) e, especificamente, no município de Curitiba (5 casos de neoplasia na bexiga), seguida pelas regiões

---

<sup>1</sup> Tadeu José Vilela. Formulários para informações sobre Intoxicações em Animais Domésticos - U.V. Tibagi - N.R. Ponta Grossa - 04.05.87.

de Umuarama e Campo Mourão (7 casos cada), a primeira com uma distribuição aparentemente homogênea de casos em seus municípios e a segunda com destaque, novamente, para o município de Cianorte (4 casos de neoplasia na bexiga, isolada ou em associação com papiloma e/ou carcinoma no trato digestivo superior).

Comparando-se as duas fontes de informação, dois municípios chamam a atenção como áreas de maior ocorrência de ambas as manifestações crônicas: Tibagi, pelo grande número de casos notificados e Cianorte, por se destacar em ambas as fontes analisadas. Esses dados recomendam um estudo epidemiológico mais aprofundado nesses municípios.

É importante lembrar que esses números correspondem apenas aos casos diagnosticados pela Seção de Anatomia do CDME, o número real é, certamente, maior, visto tratar-se de uma situação endêmica e que, após o registro inicial, muitos casos deixam de ser notificados ou diagnosticados laboratorialmente. Portanto, esses números devem ser considerados não como casos isolados, mas como focos de letalidade permanente, ou seja, como áreas endêmicas.

Se considerados os diagnósticos de cistites não associadas a neoplasias de bexiga e os diagnósticos de papilomas como lesões precedentes das lesões observadas na fase terminal da Hematúria Enzoótica e do carcinoma no trato digestivo superior, respectivamente, verificamos que o número de diagnósticos das lesões iniciais é sempre menor e representa, talvez, achados incidentais de necropsia, visto que as lesões geralmente enviadas para exame histopatológico são mais avançadas, pois provêm de bovinos que morreram ou foram sacrificados no estágio terminal da doença. Existe também a condição de que, após os primeiros diagnósticos de qualquer das manifesta-



ções crônicas, essas áreas configuram-se, freqüentemente, como endêmicas e, daí em diante, os bovinos levados para abate ao apresentarem os primeiros sinais clínicos, e que mostrariam as lesões iniciais, geralmente não sofrem novas colheitas de amostras para exame histopatológico.

Todos os bovinos intoxicados necropsiados durante o ano de vigilância pertenciam a propriedades que mostravam *P. aquilinum* nas pastagens. Além dos casos de intoxicação evidenciados, foram também observados nessas propriedades plantas com as pontas aparadas como um indício de sua ingestão pelos animais. Em uma das propriedades não foi possível confirmar a ocorrência da planta. Em outra propriedade, a *P. aquilinum* foi erradicada aproximadamente 1,5 anos antes da observação de um caso de hematúria em uma vaca. Essa propriedade compõe-se de 3 a 4 hectares de pastagens, sendo que aproximadamente 1 hectare estava infestado por *P. aquilinum* e apesar do 2,4D não ser considerado suficientemente eficiente no combate a *P. aquilinum* (SIPPEL, 1952), a erradicação da planta nessa área foi conseguida, há três anos, após duas aplicações de um herbicida<sup>1</sup> a base de 2,4D + Picloran. O fato da hematúria ter sido observada apenas 1,5 anos após a erradicação da planta poderia ser atribuída a uma percepção tardia da doença ou ainda a outra causa que não a *P. aquilinum*.

A tentativa de controlar a *P. aquilinum* através da calagem do solo, método tradicionalmente recomendado, e do plantio de gramíneas como a *Brachiaria umidicola* ou a *Brachiaria ruzizienses*, não se mostrou efetiva em outra propriedade onde

---

<sup>1</sup>Tordon. Dow Produtos Químicos LTDA. R. Alexandre Dumas, 1671 S. Paulo, 04717. SP.

a intensidade de ocorrência da planta é alta e os casos de intoxicação ocorrem há muitos anos.

Todos os bovinos necropsiados durante o ano de vigilância mostravam manifestações de Hematúria Enzoótica ou de carcinoma no trato digestivo superior, porém em uma das propriedades, visitada no final do inverno, no município de Jaguapitã, foi possível observar, além dessas manifestações, a ocorrência de um quadro clínico compatível com a intoxicação aguda em dois bezerros e, segundo o criador, esses casos costumam ocorrer geralmente no inverno e em épocas secas. Quanto às manifestações crônicas, os criadores contactados, de maneira geral, afirmavam que elas ocorrem há muitos anos, frequentemente também em propriedades vizinhas e que os tratamentos ministrados à base de antianêmicos, antibióticos, antitóxicos e polvitamínicos não têm mostrado resultados favoráveis, sendo que os animais acometidos morrem, são sacrificados na fase terminal ou são enviados para abate na fase inicial dos sinais clínicos. Como o problema existe ao longo de muitos anos e muitos dos animais doentes são abatidos na fase inicial da doença, é sempre difícil precisar as perdas econômicas, a morbidade e a letalidade, embora sejam sempre estimadas como altas nessas áreas endêmicas.

A presença de papilomas cutâneos, observados em pelo menos 3 das 16 propriedades estudadas durante o ano de vigilância, parece não mostrar nenhuma relação com as manifestações crônicas aqui consideradas, visto que os papilomavírus que provocam lesão na pele e no trato digestivo superior são de diferentes tipos (JARRET, 1985).

Segundo PAMUKCU (1974) as neoplasias mais frequentes na bexiga de bovinos são de origem epitelial e de caráter ma-

ligno, o que é compatível com os diagnósticos registrados pela Seção de Anatomia Patológica do CDME no período de julho de 1981 a dezembro de 1988.

O diagnóstico de malignidade baseia-se não só na anaplasia celular, mas também na capacidade de invasão e na ocorrência de metástases que, segundo PAMUKCU(1974), são tardias em carcinomas na bexiga. Dos bovinos necropsiados durante o ano de vigilância que mostravam neoplasias malignas na bexiga, foi possível observar metástase a linfonodos em apenas um caso de carcinoma de células de transição.

A diferenciação entre os adenomas e os adenocarcinomas pouco anaplásicos baseou-se principalmente no fato de que, embora ambos possam ter origem em glândulas pré-existentes na mucosa da bexiga, esta origem disontogênica não tem sido estudada em detalhes em animais, sendo que a maioria dessas lesões em bovinos tem origem em uma metaplasia glandular do epitélio de transição. Segundo MOULTON (1978), os adenomas sempre crescem em direção a luz e nunca invadem o seu estroma papilar ou a parede da bexiga e, segundo PAMUKCU(1974), alguns adenomas não podem ser diferenciados macroscopicamente de outros tumores papilares. Portanto, apesar das lesões observadas mostrarem-se geralmente pouco anaplásicas, o critério de diferenciação entre adenoma e adenocarcinoma foi estabelecido principalmente pela presença de estruturas glandulares na mucosa da bexiga, às vezes com áreas de hiperplasia do epitélio intermediárias entre o epitélio de transição normal e o neoplásico.

De acordo com PAMUKCU (1974), foram considerados como adenocarcinomas ou carcinoma espinocelular apenas as lesões onde esses padrões histopatológicos eram predominantes. Os ca-

sos que mostravam apenas áreas de metaplasia glandular ou escamosa foram diagnosticados como variantes de carcinomas de células de transição.

Hemangiomas no fígado foram observados associados a carcinoma e hemangioma na bexiga em casos de Hematúria Enzoótica no Kenia (MUGERA & NERITO, 1968). Apenas uma lesão de natureza angiomatosa foi observada no fígado de um dos bovinos examinados durante o ano de vigilância e, embora uma certa dificuldade tenha sido encontrada em diferenciar uma proliferação vascular neoplásica benigna, como é o hemangioma, de uma simples telangiectasia, de ocorrência bastante freqüente no fígado de bovinos idosos, o diagnóstico de hemangioma foi firmado principalmente em função de uma moderada proliferação intersticial de tecido conjuntivo que caracterizava o estroma tumoral ou a reação do organismo ao crescimento neoplásico.

O quadro clínico e anátomo-patológico apresentado por grande número dos bovinos com carcinoma no trato digestivo superior é semelhante ao descrito em casos de carcinoma espinocelular de tonsila palatina em cães. Segundo MOULTON (1978) a alta incidência desses carcinomas em cães em certas áreas urbanas tem sido explicada por estudos geográficos que sustentam a idéia de que fatores ambientais, como a poluição do ar, têm papel importante na gênese dessas lesões, sendo que, outras espécies são raramente afetadas. As semelhanças clínicas e anátomo-patológicas de grande número de casos de carcinoma no trato digestivo superior em bovinos com o descrito em cães, indica um comprometimento, talvez primário, da tonsila palatina nos bovinos portadores dessa neoplasia, sendo que nesse caso a *P. aquilinum* poderia, talvez, representar o fator ambiental associado.

A intensidade dos sinais clínicos observados em alguns casos de neoplasia no trato digestivo superior algumas vezes não são compatíveis com o pequeno volume ou extensão da lesão encontrada, o que poderia ser explicado pela compressão de nervos pela proliferação neoplásica, justificando um comprometimento precoce dos processos de respiração e de deglutição.

Uma hiperplasia da camada média do epitélio, associada à presença de formas bizarras e um aumento dos grânulos de querato-hialina, degeneração hidrópica do citoplasma e marginação da cromatina foram descritos por JARRET (1985) como alterações citopáticas produzidas pelo papilomavírus em seu estágio replicativo. Neste estágio, partículas virais podem ser demonstradas através de técnicas imuno-histoquímicas nas áreas ativas de queratinização, onde há assimilação das células nucleadas pela camada de queratina. Segundo o mesmo autor, os papilomas no trato digestivo superior são produzidos pelo Papilomavírus Bovino tipo 4 e em papilomas recentes grandes inclusões intranucleares podem ser visualizadas associadas às alterações citopáticas na camada imediatamente abaixo da camada queratinizada. Em lesões neoplásicas na bexiga de bovinos com sinais clínicos de Hematúria Enzoótica, no entanto, apenas o genoma do Papilomavírus Bovino tipo 2 tem sido demonstrado, mas nunca o vírus inteiro ou seus antígenos (JARRET, 1985).

A técnica imuno-histoquímica de Peroxidase-Antiperoxidase com a utilização de um antisoro contra antígenos estruturais específicos (comuns) do gênero Papilomavírus tem sido aplicada com sucesso na medicina humana na demonstração desse vírus em amostras fixadas em formalina e incluídas em parafina

de lesões de epidermodisplasia verruciforme; verrugas cutâneas, plantares e comuns; condilomas do cérvix uterino; papilomas no laringe e, até mesmo, de um caso de carcinoma na uretra (LACK *et al.*, 1980; JENSON *et al.*, 1980; MORIN *et al.*, 1981; GRUSSENDORF-CONEN *et al.*, 1987). Em medicina veterinária, a demonstração de papilomavírus em fibropapilomas cutâneas e em papilomas no trato digestivo superior através de técnicas imunohistoquímicas foi relatada por JARRET (1985).

A presença de papilomas no trato digestivo superior dos bovinos necropsiados durante o ano de vigilância, freqüentemente associada a carcinomas espinocelulares de localização semelhante ou a neoplasia na bexiga, levou à utilização dessa técnica nas amostras das lesões colhidas e processadas para o diagnóstico histopatológico de rotina numa tentativa de demonstrar a presença de um papilomavírus associado a essas lesões.

Embora o resultado negativo possa talvez ser explicado por uma baixa sensibilidade da técnica, associada ao pequeno número de amostras testadas, outros fatores podem também ter influenciado este resultado, entre eles a técnica de fixação empregada nas amostras.

Embora a formalina seja considerada o mais prático e, provavelmente, o melhor fixador, o tempo de fixação é crítico na prova de Peroxidase-Antiperoxidase e um tempo de fixação prolongada pode provocar um mascaramento do antígeno. Neste caso o tratamento com enzimas proteolíticas pode ser indicado para digerir o excesso de ligações aldeídicas e expor o antígeno. A fixação recomendada deve ser no tempo mais curto possível e suficiente para conseguir uma boa preserva-

ção da morfologia, geralmente 6-12 horas. Apesar de que tecidos fixados por períodos mais longos podem ainda exibir intensa marcação dependendo da concentração de antígeno presente (BOURNE, 1984).

Uma vez que as amostras testadas foram processadas a princípio visando apenas o diagnóstico histopatológico de rotina, o tempo mínimo de fixação foi de 48 horas, isto é, bem superior ao mínimo recomendado. Isto associado possivelmente a uma baixa concentração de antígenos virais pode, talvez, explicar o resultado negativo. Embora ambos os testemunhos positivos tenham reagido positivamente, o testemunho fixado em Carnoy mostrou uma marcação mais intensa que o testemunho fixado em formol. Para assegurar a qualidade do controle positivo, foram sempre utilizados os dois controles positivos, o fixado em formalina e o fixado em Carnoy, em cada série de lâminas testadas.

Por todas essas observações, a ausência de casos positivos não elimina a possibilidade da presença do papilomavírus estar associada a essas lesões. O emprego da técnica de PAP em um número maior de amostras de papilomas e, talvez até, de carcinomas, colhidas especialmente com esta finalidade, fixadas em Carnoy ou mesmo em formalina, desde que obedecendo os tempos mínimos de fixação, poderia talvez fornecer resultados diferentes.

Finalmente, em lesões pré-malignas e malignas o genoma viral pode estar integrado ao DNA das células transformadas e desta forma não expressa antígenos estruturais virais. Nesses casos seria recomendado o emprego de técnicas de hibridização de DNA na pesquisa do genoma viral (MORIN *et al.*, 1981).

## VI. SUMÁRIO

Poucos relatos existem na literatura científica sobre a importância da *Pteridium aquilinum* como planta tóxica e sobre a sua toxicidade no Estado do Paraná.

Através de um estudo epidemiológico e anátomo-patológico verificou-se a ocorrência da planta e de intoxicações em bovinos em praticamente todo território do Estado do Paraná. Não se observaram casos de intoxicação nas demais espécies animais domésticas susceptíveis.

Tendo em vista a freqüente ocorrência de papilomas e de carcinomas espinocelulares no trato digestivo superior de bovinos que manifestam a Hematúria Enzoótica ou que tem acesso à planta, utilizou-se sem sucesso a técnica de Peroxidação-Antiperoxidase, com um antisoro comercial contra antígenos estruturais específicos (comuns) do gênero Papilomavírus como anticorpo primário, numa tentativa de demonstrar a possível participação desse agente, juntamente com a *P. aquilinum*, na gênese dessas lesões em bovinos.



## SUMMARY

The toxicity of the bracken fern has been comproved, inclusive experimentaly, in many parts of the world. However, there are few reports in the scientific literature about its importance as toxic plant and its toxicity in the State of Paraná, Brazil.

It was observed by a epidemiologic and pathologic study the occurrence of bracken fern and cases of bovine intoxication in pratically all the State of Paraná. It was not observed cases of intoxication in other susceptible domestic animal species.

Due to the frequent occurrence of papillomas and squamous cell carcinomas in the upper alimentary tract of bovines showing signs of Enzootic Hematuria or having access to the plant, it was used without success the Peroxidase-Antiperoxidase technique with a commercial antiserum to bovine papillomavirus type 1, reactive with papillomavirus genus-specific (commom) structural antigens regardless of host species, in an attempt to demonstrate a possible association of that virus with *P.aquílinum* in the production of those lesions in bovine.

## VII. CONCLUSÕES

1- A *Pteridium aquilinum* ocorre em pelo menos 105 municípios e em 14 das 18 regiões administrativas da Secretaria da Agricultura e do Abastecimento, representando todas as 8 mesorregiões do Estado do Paraná, com uma intensidade de ocorrência que varia, principalmente, entre baixa e discreta;

2- Constatou-se uma aparente associação da intensidade de ocorrência da *P. aquilinum* com fatores ambientais, assim como com o tipo de exploração pecuária predominante. Uma intensidade de ocorrência considerada alta foi observada nas mesorregiões 1, 2 e 3 e a intensidade de ocorrência da *P. aquilinum* foi considerada menor nos municípios onde predominava a exploração da pecuária de leite ou mista;

3- O tipo de pastagem, nativa ou cultivada, predominante no município aparentemente não influencia a intensidade de ocorrência da *P. aquilinum*;

4- No Estado do Paraná, aparentemente, a única espécie animal para a qual a *P. aquilinum* representa um problema importante é a bovina;

5- A ocorrência de intoxicações, agudas e crônicas, pela *P. aquilinum* em bovinos foi registrada em 58 municípios e 14 regiões, contemplando todas as mesorregiões do Estado do Paraná;

6- A idade, o quadro clínico e as lesões observadas na intoxicação aguda, na Hematúria Enzoótica e nos carcinomas no

trato digestivo superior em bovinos no Estado do Paraná, são compatíveis com o relatado na literatura científica;

7- Apenas a ocorrência de casos de intoxicação aguda está, aparentemente, associada a intensidade de ocorrência da *P. aquilinum*, sendo que o maior número de casos agudos ocorreu em municípios onde a intensidade foi considerada de moderada a alta;

8- O maior número de casos de Hematúria Enzoótica e de carcinoma no trato digestivo superior em bovinos foi registrado nas mesorregiões 2 e 7, com destaque para os municípios de Tibagi e Cianorte respectivamente;

9- Confirmou-se uma associação entre a ocorrência de Hematúria Enzoótica e de carcinoma no trato digestivo superior em bovinos no Estado do Paraná;

10- Por sua ampla distribuição e por ser a planta responsável pelo maior número de intoxicações em animais domésticos, sobretudo, em bovinos, a *P. aquilinum* deve ser considerada a principal planta tóxica no Estado do Paraná;

11- Não foi possível demonstrar, através da utilização da técnica imuno-histoquímica da Peroxidase-Antiperoxidase, a presença de um papilomavírus nas lesões atribuídas à ingestão da *P. aquilinum*, no trato digestivo superior dos bovinos necropsiados.

## VIII. ANEXOS

.

.

FORMULÁRIO PARA INFORMAÇÕES SOBRE INTOXICAÇÕES EM ANIMAIS DOMÉSTICOS

UNIDADE VETERINÁRIA:

NÚCLEO REGIONAL:

PROPRIETÁRIO:

MUNICÍPIO:

DATA DE OCORRÊNCIA:

DIAGNÓSTICO

CLÍNICO ☐

LABORATORIAL ☐

HOUVE NECRÓPSIAS: SIM ☐

NÃO ☐

ATENDIMENTO À PROPRIEDADE: D.S.A. ☐

PARTICULAR ☐

NOME DO TÉCNICO QUE ATENDEU A OCORRÊNCIA:

CAUSA DA INTOXICAÇÃO: AGROTÓXICO ☐ PRODUTO VETERINÁRIO ☐ PLANTAS TÓXICAS ☐ OUTROS ☐

ANIMAIS INTOXICADOS: \_\_\_\_\_ ESPÉCIE ANIMAL: \_\_\_\_\_ ÓBITOS: \_\_\_\_\_

SINTOMAS OBSERVADOS:

OS ANIMAIS FORAM TRATADOS APÓS A INTOXICAÇÃO ?

SIM ☐

NÃO ☐

DOS TRATADOS QUANTOS RECUPERARAM \_\_\_\_\_

ESQUEMA GERAL DE TRATAMENTO UTILIZADO: ( PRODUTO - DOSAGENS - VIAS DE APLICAÇÃO, ETC... )

DADOS SOBRE O PRODUTO CAUSADOR DA INTOXICAÇÃO: ( PREENCHER O QUADRO CORRESPONDENTE )

AGROTÓXICO

NOME DO PRODUTO:

PRINCÍPIO ATIVO:

LABORATÓRIO:

CULTURA EM QUE FOI UTILIZADO O PRODUTO:

COMO OCORREU A INTOXICAÇÃO ( DESCREVER )

PRODUTO VETERINÁRIO

PRINCÍPIO ATIVO:

LABORATÓRIO:

VIA DE APLICAÇÃO:

DOSE UTILIZADA:

EM QUANTOS ANIMAIS FOI APLICADO O PRODUTO: \_\_\_\_\_

OBSERVAÇÕES: \_\_\_\_\_

PLANTAS TÓXICAS E OUTROS

QUAL:

SE POR OUTROS, QUAL, E COMO OCORREU A INTOXICAÇÃO? ( DESCREVER ) \_\_\_\_\_

DATA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

NOME DO TÉCNICO: \_\_\_\_\_

LEVANTAMENTO DE OCORRÊNCIA DA *Pteridium aquilinum*

1. UNIDADE VETERINÁRIA: \_\_\_\_\_
2. MÉDICO VETERINÁRIO CHEFE DA UNIDADE: \_\_\_\_\_
3. MUNICÍPIO: \_\_\_\_\_
4. POPULAÇÃO ESTIMADA DE HERBÍVOROS:  
BOVINOS (SEAB-DEFIS): \_\_\_\_\_  
OVINOS (IBGE): \_\_\_\_\_  
EQUÍDEOS (IBGE): \_\_\_\_\_  
SUÍNOS (IBGE): \_\_\_\_\_
5. EXPLORAÇÕES PREDOMINANTES:  
BOVINOS:  
CARNE ☐ LEITE ☐ MISTA ☐ INTENSIVO ☐ EXTENSIVO ☐  
OVINOS:  
CARNE ☐ LÃ ☐ MISTA ☐ INTENSIVO ☐ EXTENSIVO ☐  
EQUÍDEOS:  
TRAÇÃO ☐ MONTARIA ☐ ESPORTE ☐ INTENSIVO ☐ EXTENSIVO ☐  
SUÍNOS:  
CARNE ☐ REPRODUÇÃO ☐ INTENSIVO ☐ EXTENSIVO ☐
6. MANEJO PREDOMINANTE:  
INTENSIVO ☐ EXTENSIVO ☐
7. TIPO DE PASTAGEM PREDOMINANTE NAS PROPRIEDADES DO MUNICÍPIO:  
NATIVA ☐ CULTIVADA ☐
8. EXISTE *P. aquilinum* NESTE MUNICÍPIO?  
SIM ☐ NÃO ☐
9. QUAL A INTENSIDADE DE SUA OCORRÊNCIA?\*
10. ASSINATURA DO CHEFE DA UNIDADE VETERINÁRIA: \_\_\_\_\_

\*

ALTA - Mais de 75% das propriedades com pastagens infestadas

MODERADA - 50 a 75% das propriedades com pastagens infestadas

BAIXA - 25 a 50% das propriedades com pastagens infestadas

DISCRETA - Menos de 25% das propriedades com pastagens infestadas ou a planta ocorre em áreas restritas, geralmente sem o acesso dos animais (matas, beira de estradas, etc.)

INEXISTE - 0%

## IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALMOND, N. (1894) Fern poisoning. J.Comp. Path. and Therap. 7: 165-167.
- BARNETT, K.C. & WATSON, W.A. (1968) Bright blindness in sheep The results of further investigations. Veterinarian, 5: 17-27.
- BARNETT, K.C. & WATSON, W.A. (1970) Bright blindness in sheep A primary retinopathy due to feeding of bracken fern *Pteris aquilina*. Res. Vet. Sci., 11: 289-290.
- BASILE, J.R.; REIS, A.C.F.; GASTE, L. (1981) Intoxicação aguda de bovinos pela samambaia (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) no Estado do Paraná. Rev. Setor Ciências Agr., 3: 167-170.
- BEČAK, W. & PAULETE, J. (1976) Técnicas de Citologia e Histologia. Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos, 2v. 554 pp.
- BERAN, G.W. (1966) Bovine cystic hematuria in the Philippines. A report on an enzootic area. J. Am. Vet. Med. Ass. 149: 1686-1690.
- BODDIE, G.F. (1947) Toxicological problems in veterinary practice, Vet. Rec. 59 (37): 470-486.
- BOURNE, J.A. (1984) Handbook of Immunoperoxidase Staining methods. Santa Barbara, DAKO Corporation 37 pp.
- BRINGUIER, P.-P. (1987) Contribution a l'etude de la Hematurie Chronique des bovins. Tese de Doutorado Veterinário. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon-Université Claude-Bernard, Lyon, França. 81 pp.
- BROUGH, R.J. (1963) "Out of season" bracken poisoning. Vet. Rec. 75: 181-182.
- CAMPOS NETO, O.; BARROS, H.M.; BICUDO, P.L. (1975) Estudo do carcinoma do trato digestivo superior e da Hematúria Enzootica dos bovinos na região de Botucatu, Estado de São Paulo. Arq. Esc. Vet. UFMG 27 (2): 125-139.
- CHEEKE, P.R. & SHULL, L.R. (1985) Natural Toxicants in Feeds and poisonous Plants. Westport, AVI, 391 pp.

- CLARKE, E.G.C. & CLARKE, M.L. (1967) Poisonous Plants. In: GARNER'S Veterinary Toxicology. 3 ed. London, Baillière, Tindall & Cassel, pp. 303-406.
- CORDY, D.R. (1952) The pathology of experimental bracken poisoning in rats. Cornell Vet. 42: 108-117.
- CURIAL, O. (1964) Hematúria Enzoótica dos bovinos. Observações Anatomopatológicas. Tese de Titular. Escola de Agronomia e Veterinária. Universidade do Paraná. 45 pp.
- DINIZ, J.M.F.; BASILE, J.R.; CAMARGO, N.J. (1984) Intoxicação natural de asininos por *P. aquilinum* (L.) Kuhn no Brasil. Arq. Bras. Med. Vet. Zoot. 36: 515-522.
- DOBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H.; CANELLA, C.F.C. (1967) Ocorrência de hematúria e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil. Pesq. Agropec. Bras. 2: 489-504.
- EVANS, E.T.R.; EVANS, W.C.; ROBERTS, H.E. (1951) Studies on bracken poisoning in the horse, Br. Vet. J. 107 (9-10):364-371; 399-411.
- EVANS, I.A.; THOMAS, A.J.; EVANS, W.C.; EDWARDS, C.M. (1958) Studies on bracken fern poisoning in cattle. Part. V. Br. Vet. J. 114: 253-267.
- EVANS, I.A. & HOWELL, R.M. (1962) Bovine bracken poisoning. Nature, 194 (4828): 584-585.
- EVANS, I.A.; HUMPHREYS, D.J.; GOULDEN, L.; THOMAS, A.J.; EVANS, W.C. (1963) Effects on bracken rhizomes on the pig. J. Comp. Pathology 73: 229-243.
- EVANS, I.A. & MASON, J. (1965) Carcinogenic activity of bracken. Nature, 208: 913-914.
- EVANS, I.A. (1968) The radiomimetic nature of bracken toxin. Cancer Res. 28: 2252-2261.
- EVANS, I.A.; JONES, R.S.; MAINWARDING - BURTON, R. (1972) Passage of bracken fern toxicity into milk. Nature 237:107-108.
- EVANS, I.A. (1976) Relationship between bracken and cancer. Bot. J. Linn Soc. 73: 105-112.
- EVANS, I.A.; PROROK, J.H.; COLE, R.C.; AL-SALMANI, M.H.; AL-SAMARRAI, A.M.H.; PATEL, M.C.; SMITH, R.M.M. (1982) The carcinogenic, mutagenic and teratogenic toxicity of bracken. Proc. R. Soc. Edimburg (Biol. Sci.) 81: 65-77.
- EVANS, W.C.; EVANS, E.T.R.; HUGHES, L.E. (1954 a) Studies on bracken fern poisoning in cattle. Part I. Br. Vet. J. 110: 295-306.



- EVANS, W.C.; EVANS, E.T.R.; HUGHES, L.E. (1954 b). Studies on bracken fern poisoning in cattle. Part II Br.Vet.J. 110: 365-380.
- EVANS, W.C.; EVANS, E.T.R.; HUGHES, L.E. (1954 c). Studies on bracken ferns poisoning in cattle. Part III. Br.Vet. J. 110: 426-444.
- EVANS, W.C.; EVANS, I.A.; THOMAS, A.J.; WATKINS, J. E.; CHAMBERLAIN, A.G. (1958). Studies on bracken fern poisoning in cattle. Part IV. Br Vet. J. 114: 180-198.
- EVANS, W.C. (1976) Bracken thimianisa-mediated neurotoxic syndromes. Bot. J. Linn Soc. 73: 113-131.
- FLETCHER, J.M. (1944) Bracken poisoning in cattle. Vet. Rec. 56: 478 Apud SIPPEL, W.L. (1952) Bracken fern poisoning. J.Am.Vet.Med. Assoc. 121: 09-13.
- FREEMAN, J. (1893) An obscure disease of cattle. J.Camp. Pathol. and therap, 6: 279-80.
- GRUSSENDORF-CONEN, E.I.; DEUTS, F.J.; de VILLIERS, E.M. (1987). Detection of Human Papilomavírus - in primary carcinoma of the urethra in man. Cancer, 60: 1832-1835.
- HADWEN, S. (1917) So called staggers in horses caused by the ingestion of *Pteris aquilina*, the common bracken. J.Am.Vet. Med. Assoc. 50: 702-704.
- HAGAN, W.A. (1952) Bracken poisoning of cattle. Cornell Vet. 15: 326-332.
- HEAD, K.W. (1976) Tumours of the upper alimentary tract. Bull. Wld. Hlth. Org. 53 (2-3): 145.166.
- HOPKINS, N.C.G. (1986) Aetiology of Enzootic Haematuria. Vet. Rec. 118: 715-717.
- IARC (1985) Monographs on the evolution of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) and some of its constituents. Lyon, (s.n.), V40 pp. 47-65.
- JARRET, W.F.H. (1978) Transformation of warts to malignancy in alimentary carcinoma in cattle. Bull. Cancer 65 (2): 191-194.
- JARRET, W.F.H.; McNEIL, P.E.; GRIMSHAW, W.T.R.; SELMAN, I.E.; McINTYRE, W.I.M. (1978 a) High incidence area of cattle cancer with a possible interaction between an environmental carcinogen and a papilloma virus. Nature 274: 215-217.
- JARRET, W.F.H.; MURPHY, J.; O'NEIL, B.W.; LAIRD, H.M. 1978b) Virus-induced papillomas of the alimentary tract of cattle. Inst. J.Cancer 22: 323-328.
- JARRET, W.F.H. (1980) Bracken fern and papilloma virus in bovine alimentary cancer. Br. Med. Bull. 36 (1): 79-81.

- JARRET, W.F.H. (1985). Bovine Papillomavirus, In: JABLONSKA, S. & ORTH, G. Clinics in Dermatology. Warts/Human Papolomaviruses. Philadelphia, J.B. Lippincott, pp. 8-19.
- JENSON, A.B.; ROSENTHAL, J.D.; OLSON, C.; PASS, F.; LANCASTER, W.D.; SHAH, K. (1980) Immunologic relatednes of papilomavirus from different species. J.N.C.I., 64 (3): 495-498.
- JONES, T.C. & HUNT, R.D. (1983 a) Diseases due to extraneous poisons. In: Veterinary Pathology. 5 ed. Philadelphia, Lea & Febiger, pp. 901-1030.
- JONES, T.C. & HUNT, R.D. (1983 b) Nutricional deficiency .In: Veterinary Pathology. 5 ed. Philadelphia, Lea & Febiger, pp. 1031-1077.
- JONES, T.C. & HUNT, R.D. (1983 c) The digestive system. In: Veterinary Pathology. 5 ed. Philadelphia, Lea & Febiger, p. 1350-1442.
- JONES, T.C. & HUNT, R.D. (1983 d) The urinary System. In: Veterinary Pathology. 5 ed. Philadelphia, Lea & Febiger, pp. 1500-1501.
- LACK, E.E.; JENSON, A.B.; SMITH, H.G.; HEALY, G.B.; PASS, F.; VAWTER, G.F. (1980) Immunoperoxidase Localization of human papillomavirus in laringeal papillomas. Intervirolgy, 14: 148-154.
- LORENZI, H. (1982) *Pteridium aquilinum* (L) Kuhn. In: Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, tóxicas e medicinais. Nova odessa, P. 341.
- MASON, J. (1965) Pathology of radiomimetics conditions. Tese de PhD. University of Wales. Apud EVANS, I.A. (1968) The radomimetic nature of bracken toxin Cancer Res. 28: 2252-2261.
- M.A. (1981) Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Planejamento Agrícola. Aptidão Agrícola das Terras do Paraná. Brasília, BINAGRI. 140 pp.
- McKENZIE, R.A. (1978) Bovine enzootic haematuria in Queensland. Aust. Vet. J. 54: 61-64.
- MOON, F.E. & RAAFAT, M.A. (1951) The experimental production of bracken "poisoning" in sheep. J.Comp. Pathol. 61: 88-100.
- MORIN, C.; BRAUN, L.; CASAS-CORDERO, M.; SHAH, K.V.; ROY, M.; FORTIER, M.; MEISELS, A. (1981). Confirmation of the papillomavirus etiology of condilomatous cervix lesions by peroxidase-antiperoxidase technique. J.N.C.I. 66 (5):831-835.
- MOULTON, J.E. (1978 a) Tumors of the alimentary tract. In: Tumors in Domestic Animals. 2 ed. Berkeley, pp. 240-272.
- MOULTON, J.E. (1978 b) Tumors of the urinary system. In: Tumors in Domestic Animals. 2 ed. Berkeley, pp. 288-308.

- MUGERA, G.M. & NERITO, P. (1968) Tumors of the urinary bladder an liver associated with Enzootic Haematuria in Kenyan cattle. Vet. Rec. 83: 457-459.
- MULLER, H. (1987) "Landwirtschaftliche Giftlehre" Apud EVANS, E.T.R.; EVANS, W.C.; ROBERTS, H.E. (1951) Studies on bracken poisoning in the horse. Part II (Concluded). Br. Vet. J. 107: 364-371; 399-411.
- NAFTALIN, J.M. & CUSHNIE, G.H. (1954) Patology of bracken poisoning in cattle. J. Comp. Pathol. and Therap. 64: 54-74.
- NIE, N.H. *et al.* (1975) Statistival Package for the Social Sciences, 2 ed. New York, Mc Graw-Hill. 675 pp.
- OINONEN, E. (1967) The correlation between the size of finnish bracken (*Pteridium aquilinum*) (L.) Kuhn) clones and certain periods of site story. Acta. for. fenn., 83: (2): 1-51. Apud PAGE, C.N. (1976) The taxonomy and phytogeography of bracken. A review. Bot. J. Linn. Soc. 73: 01-34.
- OLSON, C.; GORDON, D.E.; ROBL, M.G.; LEE, K.P. (1969). Oncogenicity of bovine papilloma virus. Arc. Environ. Health. 19: 827-837.
- PAGE, C.N. (1976) The taxonomy and phitogeography of bracken- A Review. Bot. J. Linn. Soc. 73: 01-34.
- PAMUKCU, A.M. (1963) Epidemiologic studies on urinary bladder tumors in turkish cattle. Annals New York Academy of Sciences 108: 938-947.
- PAMUKCU, A.M.; OLSON, C.; PRICE, J.M. (1966) Assay of fractions of bovine urine for carcinogenic activity after fooding bracken fern (*Pteris aquilina*). Cancer Res. 26: 1745-1753.
- PAMUKCU, A.M. (1974) Tumors of the urinary bladder. Bull. Wld. Org. 50: 43-52.
- PAMUKCU, A.M.; PRICE, J.M.; BRYAN, G.T. (1976) Naturally occurring and bracken-fern-induced bovine urinary bladder tumors. Vet. Pathol. 13: 110-122.
- PARKER, W.H. & McCREA, C.T. (1965) Bracken (*Pteris aquilina*) poisoning of seehp in the Nort York Moors. Vet. Rec. 77: 861-866.
- PENBERTHY, J. (1983) Vegetable poisoning simulating anthrax in cattle. J. Comp. Path. and Therap., 6: 266-275
- PIRIE, H.M. (1973) Unusual occurence of squamous carcinoma of the upper alimentary tract in cattle in Britain. Res. Vet. Sci. 15 (1): 135-138.
- PLOWRIGHT, W. (1955) Malignant neoplasia of the oesophagus and rumen of cattle in Kenya. J. Comp. Path. 65: 108-115.

- ROSENBERGER, G. (1971) Carácter, manifestaciones, etiología y tratamiento de la hematuria vesical crónica del ganado vacuno. Not. Méd. Vet. (2/3): 185-202.
- SEAG-PR (1986 a) Secretaria da Agricultura do Estado do Paraná. Informativo DEFIS, 3 (5): 14.
- SEAG-PR. (1986 b) Secretaria da Agricultura do Estado do Paraná. Informativo DEFIS, (ago. set. out.): 13.
- SEHNEM, A. (1972) Pteridáceas. In: Reitz, P.R. (Ed.) Flora Ilustrada Catarinense, (PTER): 52-57.
- SIPPEL, W.L. (1952) Bracken fern poisoning. J. Am. Vet. Med. Assoc. 121: 09-13.
- STEEL, R.D. & TORRIE, J.H. (1960) Principles and Procedures of Statistics. New York, McGraw-Hill. 481 pp.
- STOCKMAN, S. (1917) Bracken Poisoning in cattle in Great Britain. J. Comp. Path. and Therap. 30: 311-316.
- STORRAR, D.M. (1983) Cases of vegetable poisoning in cattle. J. Comp. Path. and Therap. 6: 276-279.
- TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; CANELLA, C.F.C. (1967) Ocorrência de intoxicação aguda pela "samambaia" (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) em bovinos no Brasil. Pes. Agropec. Bras. 2: 329-336.
- TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; CANELLA, C.F.C. (1969) Ocorrência de hematúria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil. II Estudos complementares. Pesq. Agropec. Bras. 4: 209-224.
- TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; BARROS, S.S. (1979 a) Plantas tóxicas do Brasil. Região Sul I. Folheto. UFRRJ, MA/RJ. EMBRAPA/RJ. UFSM/RS.
- TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; SILVA, M.F. (1979 b) *Pteridium aquilinum*. In: Plantas Tóxicas da Amazônia. Manaus, INPA (CNPq) pp. 48-57.
- TRYON, R.M. (1941) A revision of the genus *Pteridium*. Rhodora 43: 01-31; 37-67.
- VON MURALT, A. (1958) Neue Ergebnisse der Nervenphysiologie. Berlin, Springer-Verlag. Apud EVANS, W.C. (1976) Bracken thiaminase-mediated neurotoxic syndromes. Bull. J. Linn. Soc. 73: 113-131.
- VON MURALT, A. (1962) The role of thiaminase in neurophysiology. Ann. N.Y. Acad. Sci. 98: 449-507. Apud EVANS, W.C. (1976). Bracken thiaminase-mediated neurotoxic syndromes. Bot. J. Linn. Soc. 73: 113-131.

- WATSON, W.A.; BARLOW, R.M.; BARNETT, K.C. (1965) Vet. Rec. 77: 1060. Apud BARNETT, K.C. & WATSON, (1968) Bright blindness. in sheep. The results of further investigations. Veterinarian 5: 17-27.
- WATSON, W.A.; TERLECKI, S.; PATTERSON, D.S.P. ;SWEASEY, D.; HEBERT, C.N.; DONE, J.T. (1972) Experimental produced progressive retinal degeneration (Bright Blindness) in sheep. Br. Vet. J., 128: 457-469.
- WATT, A.S. (1940) Contributions to the ecology of bracken (*Pteridium aquilinum*) I. The rizome. New Phitol, 39: 401-422. Apud PAGE, C.N. (1976) the taxonomy and phytogeography of bracken - A review. Bot. J. Linn. Soc. 73: 01-34.
- YOSHIKAWA, T. & OYAMADA, T. (1985) Histopathology of papillary tumors in the bovine urinary bladder. Jap. J. Vet. Sci. 37: 277-287.